

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Sapos em ilhas: Análise do efeito de isolamento sobre a
morfologia de populações insulares de anfíbios do
litoral do Rio de Janeiro**

Raoni Rebouças Santos

Vitória, ES
Janeiro de 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Sapos em ilhas: Análise do efeito de isolamento sobre a
morfologia de populações insulares de anfíbios do
litoral do Rio de Janeiro**

Raoni Rebouças Santos

Orientador: Dr. Mirco Solé

Co-Orientadores: Dr. Hélio Ricardo da Silva e Dr. Delfi Sanuy

**Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas (Biologia Animal) da Universidade
Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a
obtenção do grau de Doutor em Biologia Animal**

Vitória, ES
Janeiro de 2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

S237s Santos, Raoni Rebouças, 1984-
Sapos em ilhas : análise do efeito de isolamento sobre a
morfologia de populações insulares de anfíbios do litoral do Rio
de Janeiro / Raoni Rebouças Santos. – 2017.
107 f. : il.

Orientador: Mirco Solé.
Coorientador: Hélio Ricardo da Silva.
Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Anfíbios. 2. Anuro. 3. Ilhas – Rio de Janeiro (Estado). 4.
Morfologia (Animais). 5. Animais – Anomalias. I. Solé, Mirco. II.
Silva, Hélio Ricardo da. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

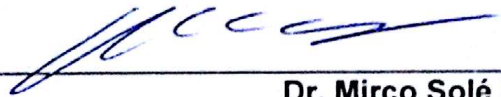
RAONI REBOUÇAS SANTOS

“Sapos em ilhas: Análise do efeito de isolamento sobre a morfologia de populações insulares de anfíbios do litoral do Rio de Janeiro.”

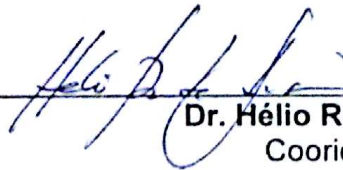
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Animal.

Aprovada em 20 de janeiro de 2017.

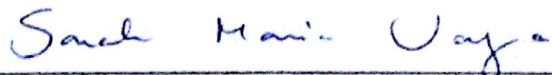
Comissão Examinadora:



Dr. Mirco Solé Kienle
Orientador e Presidente da Comissão – UFES



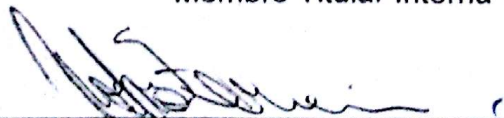
Dr. Hélio Ricardo da Silva
Coorientador – UFES



Dr. Sarah Maria Vargas
Membro Titular Interna - UFES



Dr. Valéria Fagundes
Membro Titular Interna - UFES



Dr. Rodrigo Barbosa Ferreira
Membro Titular Externo - UVV



Dr. Marcio Roberto Costa Martins
Membro Titular Externo - USP

AGRADECIMENTOS

Fazer doutorado foi muito fácil. Não que o conteúdo tenha sido simples, ou que uma suposta genialidade de minha parte exista, mas muitas pessoas participaram direta ou indiretamente dessa empreitada, e todos foram extremamente competentes no que se propuseram a contribuir com esse objetivo.

Primeiramente, agradeço a minha mãe, Dona Gal, que por muitas vezes colocou o sangue em jogo para que eu pudesse ter uma educação da melhor forma que ela podia dar. Não sei se sem ela chegaria tão longe. Incluo aqui toda a minha família (irmãos, vó, tios e tias, primos e primas e todos os incluídos nas muitas outras categorias), sem os quais tudo seria bem mais difícil.

Geralmente aqui agradece-se aos orientadores, mas eles tanto fizeram que preferi colocar um parágrafo para cada um, mesmo que de forma nenhuma seja suficiente. Tive a oportunidade de trabalhar com grandes pesquisadores, então nada mais justo.

Agradeço a Mirco Solé, prezado amigo e orientador, pelo tempo e confiança dedicados, mesmo em uma orientação à distância. O tipo de orientador que surge para resolver sempre quando algum problema insolúvel aparece. São quase sete anos juntos, e espero um dia ter a oportunidade de retribuir tudo que fez por mim.

A Delfi Sanuy, una persona genial, que molt he fet per la meva a Espanya mateix sense conèixer-me abans. Crec que el meu temps allà, lluny de la meva família i amics, podria ser molt més dolent si no fos el. Molt de gust tenir conegut un tan bo investigador i persona. Moltes gracies!

A Hélio Ricardo da Silva, meu amigo, orientador, parceiro, e talvez uma das mentes mais brilhantes que já vi de perto trabalhando. Sem dúvida, a maior parte do pesquisador que sou hoje não poderia ser moldada se não fosse pelo tempo no laboratório, pelos bate-papos com assuntos indo desde astrofísica até política interna da universidade, e claro sem os (raros, sim! Raros!) puxões de orelha. Entrei com um projeto, uma ideia simples e única, e saio hoje com uma tese de três capítulos e novas ideias para ocupar meus próximos 20 anos de trabalho como pesquisador. É muito divertido fazer pesquisa com tanta criatividade envolvida.

Agradeço a meus colegas de pós-graduação pela troca de conhecimento em áreas tão diferentes da minha, em especial à Rafaela Duda e Ana Heloísa de Carvalho que me ajudaram no dia da seleção com meu atraso involuntário e em tantas outras oportunidades.

Agradeço a Yuri Leite e Leonora Costa, meus amigos, professores, e que me acolheram no LaMaB – UFES apenas para que eu não ficasse sem um “lugar”. Ali conheci muita gente boa durante os muitos cafés e risadas no meu tempo em Vitória.

Aos ajudantes de coleta: Gustavo Colaço, Yumi Moliné, Renato Fernandes, Taylan e João Moretti, Amanda Júlia, Alice Ribeiro, “Dio”, Renan Oliveira, Karina Marques e tantos outros que sempre me ajudaram em campo apenas por ajudar, muitas vezes deixando seus horários de disciplinas e/ou de lazer para irem à noite nas ilhas comigo. A eles, minha humilde reverência.

Aos amigos da UFRRJ, que são muitos e por isso não serei injusto porque minha memória é horrível, principalmente para nomes, e tenho certeza que vou esquecer alguém. Os aqui incluídos já o sabem, então não há nenhum prejuízo envolvido. Muitos deles me acolheram quase como uma pessoa da família, e isso significa muito.

Als amics d'Espanya Sebastià Camarasa, Mark Fibla, Ana Ñanco, Neus Oromí, Pere Carreras Pons i Ruben, que molt han fet per fer de la meva estada em Lleida tan tranquil·la. Moltes gràcies per tot que han fet per mim.

To my roommates Tatiana Shestakova and Federico Quatrinni whom made my time in Spain easier and delightful. I really miss you guys and I hope to get the opportunity to visit you in your countries and, off course, I'm expecting your visit here in Brazil.

Às instituições: Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, pela admissão ao doutorado; Marinha do Brasil, pela ajuda com a logística de excursões a campo; à Universitat de Lleida por me receber de braços abertos para execução de parte do trabalho; ao Museu Nacional da UFRJ, em especial ao Prof. Dr. José Pombal Jr. e a Dra. Manoela Woitovicz, por me receberem tão bem para exame de material da coleção de herpetologia; e à UFRRJ, por toda a estrutura de trabalho.

Aos amigos por me suportarem.

E claro, à Francine Monken, onde encontrei alento em tantos momentos internos de conflito e confusão, ela que tem o superpoder de com um abraço resolver todos os problemas do mundo. Parte desse trabalho todo é dela.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	v
Lista de Figuras.....	vi
Resumo	9
Abstract.....	10
Apresentação.....	11
Capítulo I – Talvez nem tudo esteja bem no paraíso: Registro de sapos malformados em ilhas do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil.....	19
Introdução	22
Material e Métodos	23
Resultados	25
Discussão	26
Agradecimentos	30
Referências.....	31
Tabelas	36
Figuras.....	38
Apêndice	40
Capítulo II – Puberdade, sapos e ilhas: Existem diferenças na longevidade e maturidade sexual entre populações continentais e insulares?	42
Introdução	45
Material e Métodos	47
Resultados	50
Discussão	52
Agradecimento	58

Referências.....	58
Tabela.....	66
Figuras.....	67
Capítulo III – A “regra de ilhas” é aplicável a anfíbios? Populações insulares do Rio de Janeiro dizem que não.....	
	73
Introdução	76
Material e Métodos	77
Resultados	82
Discussão	85
Agradecimentos	90
Referências.....	90
Tabela.....	95
Figuras.....	96
Material Suplementar	99

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Incidência de más formações em indivíduos de *R. ornata* por localidade.

Tabela 2. Classificação de defeitos ocorrentes em *R. ornata*. (NM) Recém-metamorfoseado, (J) Juvenil, (AF) Fêmea Adulta, (AM) Macho Adulto.

Capítulo II

Tabela 1. Quantidade de indivíduos em cada idade que apresentaram excrescências nupciais em áreas do dedo e da palma da mão. IMcT = Tubérculo Metacarpal Interno.

Capítulo III

Tabela 1. Valores p obtidos a partir da ANOVA para cada medida em todos os locais. (*, **, ***: nível de significância)

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Localização das populações de *R. ornata* examinadas para quantificação das malformações

Figura 2. Malformações em *R. ornata* de populações insulares: Braquidactilia (A, D e E), Polidactilia (B), Ectromelia radio-ulnar (C), Rotação digital (D), Ectromelia tibia-fibular (E) e Microcefalia e Micromelia (F). (Escala 1cm).

Capítulo II

Figura 1. Populações de *R. ornata* na Costa Verde do Rio de Janeiro.

Figura 2. Estágios de desenvolvimento das excrescências nupciais em *R. ornata*: Recém-metamorfoseado em vista ventral (a) e dorsal (d), juvenil em vista ventral (b) e dorsal (e) e adulto em vista ventral (c) e dorsal (f) (Escala: 1 cm).

Figura 3. Número de indivíduos de *R. ornata* em cada classe de idade estimada por esqueletocronologia: (A) Todas as localidades juntas, (B) Localidades no continente e Ilhas separadas. A idade 0 significa que além da linha de metamorfose, não foi observada nenhuma outra linha na secção.

Figura 4. Linhas de Interrupção de Crescimento (LAG's) em *R. ornata*. (MC: Cavidade Medular; escala: 100µm).

Figura 5. Modelo de von Bertalanffy para *R. ornata* ($L_{inf}= 80,572$; $k= 0,602$; $t_0= -1,265$; $R^2= 0,976$) demonstrando o modelo de crescimento utilizando estimativas de idade (LAG's) e tamanho dos indivíduos (CRC – Comprimento Rostro-Cloacal).

Figure 6. Projeção da linha de crescimento em *R. ornata* para (A) cada ilha individualmente em relação a todas as áreas do continente, e (B) todas as ilhas em relação a todas as áreas do continente; Modelos de regressão entre (C) todas as ilhas e o continente, e (D) cada ilha separadamente em relação ao continente. (CRC – Comprimento Rostro-Cloacal).

Capítulo III

Figura 1. Locais de coleta na Costa Verde do Rio de Janeiro.

Figura 2. Perfis altimétricos das ilhas estudadas delimitados como linhas retas entre os pontos de margem mais distantes (Baseado em Google Earth©).

Figura 3. Variações do nível marinho desde 36 mil anos atrás até o presente (incerteza de profundidade= ± 1 m, Desvio padrão médio= ± 280 anos) (de acordo com Brasil (33) e adaptado de Suguio (37)).

Figura 4. Comprimento rostro-cloacal (SVL) de cada espécie por localidade em que foram coletadas. Cada uma das cores corresponde individualmente a um local, demonstrados o tamanho médio (ponto) e desvio padrão (linhas).

Figura 5. Espécies com modificação significativa de tamanho em ilhas: *Adenomera marmorata* (A: Continente e D: Ilha da Marambaia), *Scinax trapicheiroi* (B: Continente e E: Ilha Grande) e *Hypsiboas albomarginatus* (C: Continente e F: Ilha de Itanhangá) (escala: 1 cm).

Figure 6. Análise de Componentes Principais (PCA) considerando-se cada ilha e o continente para cada espécie.

Figura 7. Relação entre comprimento rostro-cloacal (SVL – mm) com superfície da ilha ($S_{\text{island}} - m^2$) e número de espécies na ilha.

RESUMO

Esta tese é composta por três capítulos acerca das populações insulares de anuros da Costa Verde, litoral sul do Rio de Janeiro. O primeiro capítulo trata do registro de anomalias físicas em populações insulares. Essas populações apresentaram incidência de malformações muito maior que as populações do continente, o que pode indicar, dentre várias possibilidades, que haja alta ocorrência de endocruzamento nas populações. O segundo capítulo trata de verificar se o efeito de nanismo, já observado anteriormente nas populações insulares, é refletido na história de vida dos indivíduos. Para isso, foram observadas as idades dos espécimes associada com o surgimento de caracteres sexuais indicadores de maturidade sexual, correlacionando com o tamanho dos espécimes por ilha, em comparação com as populações do continente. O terceiro capítulo amplia o conhecimento acerca de modificação de tamanho em virtude da insularidade em anfíbios. Nesse nós pontuamos que os parâmetros colocados pela “regra de ilhas” provavelmente necessitam de ajuste. Aqui vimos que espécies que segundo trabalhos anteriores tenderiam ao nanismo não apresentam redução de tamanho, ou apresentam gigantismo, e duas espécies de tamanho muito pequeno apresentaram nanismo em ilhas.

ABSTRACT

This thesis is composed by three chapters about island anuran populations from Costa Verde, Southern coastal of Rio de Janeiro. The first chapter is about a record of physical anomalies in insular populations. Those presented much higher malformations incidence than mainland ones, which can highlight, among many possibilities, that there is a high inbreeding occurrence in those populations. The second chapter aims to verify if effect of nanism, already previously observed in insular populations, is reflected in life history of individuals. For this, were observed specimens ages associated to sexual characters' emergence as indicators of sexual maturity, correlating to specimens' size by island, in comparison to mainland populations. The third chapter extends the knowledge about size modification due to insularity in amphibians. In this, we pointed out that parameters placed by "island rule" probably need adjustment. Here we saw that species which according previous works would tend to nanism, do not present size reduction, or present gigantism, and two species of very small size presented nanism in islands.

APRESENTAÇÃO

Ambientes insulares há muito tempo têm atraído a atenção dos biólogos. Charles Darwin, durante sua visita às Ilhas Galápagos (1859), e Alfred Wallace, no arquipélago malaio (1857, 1862) já viam as ilhas como ambientes que apresentavam faunas singulares, com adaptações específicas e muitas vezes distintas das populações continentais mais próximas. Os estudos das biotas insulares ganharam mais atenção com a publicação do livro *“Theory of Island Biogeography”* (MacArthur & Wilson 1967), onde variáveis abióticas são colocadas como fatores diretamente relacionados à diversidade de espécies em ilhas. Segundo o modelo proposto, a distância na ilha para o continente seria um fator inversamente proporcional à taxa de imigração das espécies do continente para a ilha, enquanto a área insular seria diretamente proporcional à taxa de extinção de espécies. As taxas de imigração e extinção tenderiam ao equilíbrio, em que as taxas de imigração e extinção seriam equivalentes. Essa ideia revolucionou o estudo de ecologia no mundo, e além disso, apontou ainda mais para as ilhas como ambientes diferenciados para estudo de aspectos da seleção natural.

O impacto da Teoria do Equilíbrio da Biogeografia de Ilhas (MacArthur & Wilson 1967) provocou muita discussão acerca do modelo proposto, sobre a validade do mesmo e sua aplicação a circunstâncias específicas. Por exemplo, Simberloff e Wilson (1969), através de experimento de extinção de fauna de insetos em determinadas ilhas na costa da Flórida, observaram que em um ano estas ilhas já estavam colonizadas e a fauna já demonstrava tendência ao ponto de equilíbrio, como previsto inicialmente. Entretanto, Jared Diamond, em estudo com aves nas ilhas da Califórnia (1969) demonstrou através de comparação com inventários anteriores (50 anos antes) e recentes, feitos por ele, que o número de espécies, assim como previsto por MacArthur

e Wilson (1967), permanecia muito próximo do inventário antigo, o que sugere um ponto de equilíbrio, porém a composição da avifauna havia se modificado drasticamente, e isso implica que ainda que o número de espécies tendesse ao equilíbrio, haviam certamente outras variáveis a se considerar, como a substituição de espécies ao longo do tempo. Esse trabalho, embora tenha sido criticado por essas ilhas em específico se tratarem de locais com alto índice de ocupação humana, e assim a troca de espécies poder se resultado de introdução (Lynch & Johnson 1974), tornou possível a constatação de que mesmo anualmente já ocorrem mudanças na composição de espécies (Jones & Diamond 1976).

Além da discussão sobre a validade ou não do modelo inicial proposto, foram feitos trabalhos com intuito de avaliar o modelo em circunstâncias particulares, e assim propor adaptações que não foram elucidadas primariamente por MacArthur e Wilson (1967). Por exemplo, Brown e Kodric-Brown (1977) demonstraram, através de experimento usando como ilhas indivíduos da espécie *Cirsium neomexicanum*, que a distância da ilha para o continente, quando muito reduzida, pode influenciar diretamente na taxa de reposição de espécies, e assim essa variável, que segundo o modelo original somente influenciaria na taxa de imigração, também pode influenciar a taxa de extinção. Além disso, Gilpin e Diamond (1976) demonstraram que as ilhas maiores tem uma probabilidade maior de serem encontradas por imigrantes por serem mais visíveis. Através de um modelo matemático demonstraram que a área da ilha não apenas influencia na taxa de extinção, mas também pode influenciar a imigração. Esses dois efeitos (efeito salvamento e efeito alvo, respectivamente), apesar de não implicarem na invalidação do modelo original, propõem modificações no proposto por MacArthur e Wilson (1967), mesmo que ainda assim o trabalho original permaneça intrigando os

pesquisadores interessados em faunas insulares, parte por sua simplicidade e parte pela generalidade a que se aplica.

A distância para o continente e área da ilha são fatores que influenciam na imigração e extinção respectivamente. Entretanto, em certos casos, a taxa de imigração é muito reduzida ou não existe, graças a aspectos intrínsecos da espécie. Esse aspecto torna a relação espécies/ilhas ainda mais complexa que o abordado por MacArthur e Wilson (1967). Por exemplo, J. Bristol Foster (1964) observou que em algumas populações de mamíferos isolados em ilhas da Columbia Britânica, Canadá, há um efeito de nanismo em espécies de grande porte (Artiodactyla e Carnivora) e de gigantismo em espécies de pequeno porte (Rodentia). Essa observação foi expandida por Leigh Van Valen (1973), que a nomeou de “*Island Rule*”, ou “Regra de Ilhas”, que seria a tendência de espécies de tamanho grande ao nanismo e pequenas ao gigantismo em populações insulares. Mark Lomolino (1985) através de exame de diversos taxa observou que essa tendência provavelmente seria geral para os grupos animais, e que a redução/aumento de tamanho em ilhas é dependente do tamanho do grupo ancestral no continente, com um limiar generalizado, ou tamanho ótimo, de aproximadamente 900 g (menor que isso seria considerado pequeno e maior que isso grande), sendo eu este poderia ser diferente em grupos particulares. Há diversos exemplos dos efeitos dessa regra, como o elefante extinto *Palaeoloxodon falconeri*, datado do Pleistoceno intermediário, na Sicília, Itália, com tamanho de menos que 5% do ancestral continental, *Palaeoloxodon antiquus* (Palombo 2007, Ferretti 2008); o lagarto varanídeo da ilha de Komodo, Indonésia, *Varanus komodoensis*, que é o maior lagarto vivente, também conhecido como “dragão de Komodo”; as tartarugas gigantes *Geochelone gigantea*, do atol de Aldabra, Seicheles (Arnold 1979), e *Geochelone elephantopus*, das Ilhas Galápagos, Equador (Meiri *et al.* 2008); e talvez o mais conhecido de todos, o do *Homo*

floresciensis, da Ilha de Flores, Indonésia, que é a menor espécie de homínídeo já registrada, medindo aproximadamente 1 metro de altura (Weston & Lister 2009).

Existem evidências de que indivíduos em ambientes insulares tenham a tendência de aumentar ou reduzir o tamanho em relação aos ancestrais continentais, mas muito se discute das reais causas desse efeito. Embora seja ressaltado por Van Valen (1973) e por Lomolino (1985) que o tamanho do ancestral continental seja o principal fator determinante para indivíduos em ambiente insular apresentarem gigantismo ou nanismo, muitos trabalhos mostram evidências que outros aspectos além desses podem gerar esse efeito. Meiri *et al.* (2008) propuseram que o contexto da regra de ilhas associada apenas com tamanho do ancestral no continente não explica as tendências de gigantismo e nanismo nas ilhas, e que provavelmente existe um fator filogenético para essa modificação. Além disso, Itescu *et al.* (2014) encontraram espécies de quelônios com tamanho grande em continente e com populações insulares com indivíduos ainda maiores e com tamanho pequeno em continente como indivíduos ainda menores em ilhas. É possível que a redução ou aumento de tamanho em ilhas seja decorrente de aspectos ecológicos das espécies e de características intrínsecas das ilhas, porém toda a discussão desses aspectos ainda é muito inicial.

Lomolino (2005) propõe que os fatores que fazem com que tamanhos maiores permaneçam na população insular são competição intraespecífica, relaxamento de competição interespecífica e predação, e os fatores que promoveriam nanismo na população seriam limitação de recursos, relaxamento de predação e competição intraespecífica intensificada, os dois últimos a depender dos aspectos da história natural da espécie. Entretanto, Palkovacs (2003) delimita a modificação de tamanho em ilhas como decorrente apenas de dois fatores básicos: menor taxa de mortalidade extrínseca como sendo o responsável pelo gigantismo, e menor disponibilidade de recursos como

sendo responsável pelo nanismo. Essa característica é corroborada por Lomolino *et al.* (2012), onde foi observado que a interação entre os indivíduos insulares e entre as espécies provavelmente seja o fator que faz com que haja nanismo ou gigantismo. Outra conclusão importante desse trabalho é que em ilhas a regra de Bergmann, que propõe que dentro da distribuição de um grupo taxonômico, espécies maiores são encontradas em ambientes mais frios, e espécies menores em ambientes mais quentes (Bergmann 1848), é potencializada em virtude do ambiente insular. Isso demonstra que a discussão com o objetivo de elucidar as causas da modificação de tamanho em ilhas ainda é muito inicial, e necessita de mais estudos aprofundando o tema.

Em anfíbios pouco ainda se sabe sobre a validade da regra de ilhas e suas implicações. Foram feitos nesse sentido apenas um trabalho no arquipélago de Zhoushan, China, com *Fejervarya nigromaculata* (Wu *et al.* 2006), um nas ilhas do mediterrâneo, próximas à Itália, com *Bufo viridis* (Castellano & Giacoma 1998), e dois no Brasil, um no litoral do estado do Espírito Santo com *Phyllodytes luteolus* (Mageski *et al.* 2015) e um no litoral do Rio de Janeiro, com *Rhinella ornata* (Montesinos *et al.* 2012). Os resultados nesses trabalhos são muito variados, por exemplo com *R. ornata* apresentando nanismo em ilhas, *P. luteolus* com gigantismo e *F. nigromaculata* apresentando tanto nanismo quanto gigantismo. Todas essas espécies apresentam peso inferior ao limiar proposto por Lomolino (1985, 2005), porém nem todas apresentam tendência ao gigantismo em ilhas, o que demonstra que provavelmente existe um padrão diferenciado para anfíbios nesse contexto.

Portanto, esse trabalho tem como objetivo investigar até que ponto a regra de ilhas é válida para anfíbios, ampliando o conhecimento sobre as modificações de tamanho em ambiente. O primeiro capítulo tem por objetivo investigar populações de *R. ornata* que apresentaram nanismo, registrado por Montesinos *et al.* (2012), quanto a

incidência de defeitos de desenvolvimento em comparação com as populações continentais próximas. O segundo capítulo tem o objetivo de investigar, a relação entre idade e maturidade sexual, comparando estimativas de idade das populações insulares com as continentais, e assim testar a hipótese de que o menor tamanho dos indivíduos nas ilhas esteja associado à maturidade sexual em idades menores. O terceiro capítulo tem por objetivo verificar se há modificação de tamanho em quatro espécies com aspectos da história natural diferentes entre si e correlacionar essas modificações com o histórico de formação as ilhas e com aspectos intrínsecos da história natural.

Referências

- ARNOLD, E. N. 1979. Indian Ocean giant tortoises: their systematics and island adaptations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 286: 127-145.
- BERGMANN, C. 1848. Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse.
- BROWN, J. H., AND A. KODRIC-BROWN. 1977. Turnover Rates in Insular Biogeography: Effect of Immigration on Extinction. *Ecology* 58: 4.
- CASTELLANO, S., AND C. GIACOMA. 1998. Morphological Variation of the Green Toad, *Bufo viridis*, in Italy: A Test of Causation. *Journal of Herpetology* 32: 10.
- DARWIN, C. 1859. On the origins of species by means of natural selection. London: Murray 247.
- DIAMOND, J. 1969. Avifaunal equilibria and species turnover rates on the channel islands of California. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 64: 6.

- FERRETTI, M. 2008. The dwarf elephant *Palaeoloxodon mnaidriensis* from Puntali Cave, Carini (Sicily; late Middle Pleistocene): Anatomy, systematics and phylogenetic relationships. *Quaternary International* 182: 90-108.
- FOSTER, J. B. 1964. Evolution of mammals on Islands. *Nature* 202: 2.
- GILPIN, M. E., AND J. M. DIAMOND. 1976. Calculation of immigration and extinction curves from the species-area-distance relation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 73: 4130-4134.
- ITESCU, Y., N. E. KARRAKER, P. RAIA, P. C. PRITCHARD, AND S. MEIRI. 2014. Is the island rule general? Turtles disagree. *Global Ecology and Biogeography* 23: 689-700.
- JONES, H. L., AND J. M. DIAMOND. 1976. Short-time-base studies of turnover in breeding bird populations on the California Channel Islands. *The Condor* 78: 526-549.
- LOMOLINO, M. V. 1985. Body size of mammals on islands: the island rule reexamined. *The American Naturalist* 125: 310-316.
- LOMOLINO, M. V. 2005. Body size evolution in insular vertebrates: Generality of the island rule. *Journal of Biogeography* 32: 1683-1699.
- LOMOLINO, M. V., D. F. SAX, M. R. PALOMBO, AND A. A. VAN DER GEER. 2012. Of mice and mammoths: evaluations of causal explanations for body size evolution in insular mammals. *Journal of Biogeography* 39: 842-854.
- LYNCH, J. F., AND N. K. JOHNSON. 1974. Turnover and Equilibria in Insular Avifaunas, with Special Reference to the California Channel Islands. *The Condor* 76: 14.
- MACARTHUR, R. H., AND E. O. WILSON. 1967. *Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press.
- MAGESKI, M., R. B. FERREIRA, P. R. JESUS, L. C. COSTA, J. J. ROPER, AND P. D. FERREIRA. 2015. The island rule in the Brazilian frog *Phyllodytes luteolus* (Anura: Hylidae): incipient gigantism? *Zoologia* 32: 4.

- MEIRI, S., N. COOPER, AND A. PURVIS. 2008. The island rule: made to be broken? *Proceedings of the Royal Society*: 7.
- MONTESINOS, R., H. R. D. SILVA, AND A. L. G. D. CARVALHO. 2012. The 'Island Rule' Acting on Anuran Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. *Biotropica* 44: 506-511.
- PALKOVACS, E. P. 2003. Explaining adaptive shifts in body size on islands: a life history approach. *Oikos* 103: 37-44.
- PALOMBO, M. R. 2007. How can endemic proboscideans help us understand the "island rule"? A case study of Mediterranean islands. *Quaternary International* 169-170: 105-124.
- SIMBERLOFF, D. S., AND E. O. WILSON. 1969. Experimental zoogeography of islands: the colonization of empty islands. *Ecology* 50: 278-296.
- VAN VALEN, L. 1973. Pattern and the balance of nature. *Evolutionary Theory* 1: 31-49.
- WALLACE, A. R. 1857. XLV.—On the natural history of the Aru Islands. *Journal of Natural History* 20: 473-485.
- WALLACE, A. R. 1862. On the trade of the Eastern Archipelago with New Guinea and its islands. *The Journal of the Royal Geographical Society of London* 32: 127-137.
- WESTON, E. M., AND A. M. LISTER. 2009. Insular dwarfism in hippos and a model for brain size reduction in *Homo floresiensis*. *Nature* 459: 85-88.
- WU, Z., Y. LI, AND B. R. MURRAY. 2006. Insular shifts in body size of rice frogs in the Zhoushan Archipelago, China. *Journal of Animal Ecology* 75: 1071-1080.

Capítulo I

Title: Talvez nem tudo esteja bem no paraíso: Registro de sapos malformados em ilhas do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil.

Authors: Raoni Rebouças^{1,2}, Hélio Ricardo da Silva², e Mirco Solé³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo, Brazil. E-mail: raonisreboucas@gmail.com

²Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brazil. E-mail: heliorsilva@gmail.com

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Brazil. E-mail: mksole@gmail.com

Corresponding author: Raoni Rebouças

Running title: Registro de sapos malformados em ilhas

Resumo

Malformações em anuros normalmente ocorrem em níveis baixos em populações naturais. Poucos estudos registram altos níveis de deformidades em sapos, mas há um consenso que estas podem ser causadas por diversos fatores. Aqui nós registramos malformações em *Rhinella ornata* em ilhas barreira, em comparação com populações continentais do Rio de Janeiro. Todas as ilhas mostraram níveis de malformações significativamente maiores que o limiar de cinco por cento, e uma das ilhas, Ilha Grande, a maior, mais longe do litoral e isolada por período mais longo, mostrou a maior incidência de defeitos morfológicos quando comparada com todos os outros locais. Apesar de ser possível que vários fatores como contaminação química e infecção por parasitas possam ser as causas desses defeitos, nós propomos o isolamento como a principal. Estudos adicionais são necessários para suportar um monitoramento apropriado das populações insulares e implementação de ações práticas de conservação.

Introdução

Anormalidades ou malformações em anuros referem-se a defeitos ligados ao desenvolvimento de membros, olhos e proporções corpóreas em relação à média da população (Lannoo 2008). Essas anomalias ocorrem naturalmente, usualmente numa incidência de menos de 5% dos indivíduos de uma população.(Lunde & Johnson 2012). A frequência de ocorrência além desse limiar pode ter causas diversas e essas, são subdivididas em duas classes principais: as causadas por estresse ambiental físico-químico, como incidência de radiação ultravioleta e poluentes (Blaustein & Johnson 2003) e as causadas por estresse biológico, como aumento da pressão predatória (Lannoo 2008,Ballengée & Sessions 2009), hibridação (Haddad *et al.* 1990), e parasitismo, como o caso do trematódeo *Ribeiroa ondratae* (Johnson *et al.* 1999,Sessions *et al.* 1999). Outra classe de malformações, também pouco estudada, refere-se a defeitos ligados a problemas no desenvolvimento com causas genéticas, associadas ao tamanho populacional e (Grammer *et al.* 2005). Um exemplo deste ultimo caso é o do bufonídeo *Rhinella jimi* (Stevaux 2002) introduzido na ilha de Fernando de Noronha, no nordeste brasileiro para controle de pragas há mais de um século (Olson 1981,Tolledo & Toledo 2015). Dentre os vários efeitos apresentados pela população estão ausência de olhos até a redução de membros (Toledo & Ribeiro 2009).

Nos últimos anos os registros de más formações em anuros têm aumentado significativamente (Cohen 2001) e isso frequentemente é atribuído ao aumento da exploração e consequente degradação ambiental (Blaustein & Johnson 2003). Embora historicamente poucos trabalhos registrem

deformidades (Lunde & Johnson 2012), observações mais recentes registram um incidência alta com deformidades severas (Johnson *et al.* 2001, Toledo & Ribeiro 2009, Bessa-Silva *et al.* 2016). Como anfíbios têm recebido atenção como um poderoso bioindicador de estresse ambiental (DeGarady & Halbrook 2006, Lebboroni *et al.* 2006) por sua ocupação de ambientes variados (Schiesari *et al.* 2007, Ilha & Schiesari 2014), populações desse grupo apresentando deformidades além do normal podem servir de alerta para detecção de problemas ambientais.

Um único exemplo de estudos de populações de anuros insulares, que foram isoladas após o último máximo glacial, foi apresentado por Bessa-Silva *et al.* (2016) na região da foz do Rio Amazonas. Em uma dessas ilhas (Ilha Bailique) a proporção indivíduos com defeito era de 30% e os autores atribuem essa incidência de malformações a alterações ambientais recentes (e. g. Fostier *et al.* 2000, Nery & Bonotto 2011).

Nós reportamos aqui um segundo caso de detecção de malformações em uma espécie de sapo, *Rhinella ornata* (Spix, 1824), em 3 ilhas da costa sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A taxa de defeitos é comparada com a encontrada em populações continentais próximas e discutimos a possibilidade de relacionar o conjunto de malformações observadas a causas naturais, ligadas ao isolamento dessas populações.

Material e Métodos

As observações, descrições e quantificações de malformações em indivíduos de *R. ornata* foram feitas com base de 5 populações, três de ilhas da

Baía de Sepetiba e da Baía da Ilha Grande, Rio de Janeiro [Ilha da Marambaia (23°04'31"S, 43°59'09"O), Ilha de Itacuruçá (22°56'49"S, 43°53'47"O) e Ilha Grande (23°08'55"S, 44°10'14"O)] e duas continentais [Município de Seropédica (22°45'11"S, 43°42'57"O) e Município de Mangaratiba (22°56'33"S, 44°02'25"O) (Fig. 1). As ilhas da Baía de Sepetiba e da Ilha Grande são Ilhas Barreira formadas com a elevação do nível do mar no final do Último Máximo Glacial (UMG), há cerca de 17 mil anos (Suguio 2010), quando toda a área das baías era coberta por Mata Atlântica (Belo *et al.* 2002). Essa elevação de mais de 120 metros promoveu o isolamento das ilhas da Baía da Ilha Grande há aproximadamente 10 mil anos e posteriormente o isolamento das ilhas da Baía de Sepetiba há sete mil anos (Montesinos *et al.* 2012). Após essa elevação, o nível marinho voltou a reduzir até 10 metros abaixo do atual há cinco mil anos (Suguio 2010), promovendo a conexão das Ilhas da Marambaia e da Ilha de Itacuruçá com o continente. Uma nova elevação do nível do mar há três mil anos até três metros acima do atual novamente isolou a Ilha de Itacuruçá e a Ilha da Marambaia, e a redução do nível marinho até o atual manteve a Ilha de Itacuruçá isolada, porém reconectou a Ilha da Marambaia com o continente através de uma faixa de restinga de menos de 100 metros de largura (Bittencourt-Silva & Silva 2014). Apesar disso, esse ambiente representa uma barreira para a maioria das espécies de anuros, por não apresentar os ambientes próprios para reprodução (Silva *et al.* 2008). Nesse cenário, a Ilha Grande é a mais antiga e maior em área, com 193000ha, seguida por Ilha da Marambaia com 4200ha e Ilha de Itacuruçá com 994ha (Bittencourt-Silva & Silva 2013)

Os indivíduos foram coletados entre os anos de 2003 e 2015 e classificados em recém-metamorfoseados (<20mm, sem sexo determinado),

juvenis (20-50mm, sem sexo determinado), machos adultos (>50mm e/ou com caractere nupcial no dedo dois e braço hipetrofiado) e fêmeas adultas (>50mm e/ou sem caractere sexual no dedo dois e braço comparativamente mais fino). Todas as más formações foram descritas sem execução de necrópcias, e a terminologia para classificação dos defeitos foi adaptada a partir dos trabalhos de Meteyer (2000), Meteyer et al. (2000), Johnson et al. (2001), Lannoo (2008) e Toledo e Ribeiro (2009). Todos os indivíduos examinados estão depositados na Coleção de Herpetologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Apêndice 1).

Para verificar se a frequência de anomalias nos diferentes estágios de vida difere significativamente do valor esperado de 5% proposto por Lunde e Johnson (2012), foi realizado um teste de aderência Qui-Quadrado. Ainda, foi feito um teste de homogeneidade Qui-Quadrado com intervalo de confiança de 95% para verificar se a ocorrência ou não de anomalias é dependente do sexo. Todas as análises foram feitas em plataforma R 3.3.0 (R Core Team 2016).

Resultados

173 indivíduos de *R. ornata* foram examinados das populações insulares sendo 85 da Ilha da Marambaia, 41 da Ilha de Itacuruçá e 47 indivíduos da Ilha Grande. 72 indivíduos foram examinados das localidades continentais, sendo 26 do município de Seropédica e 46 no município de Mangaratiba (ver apêndice 1 para lista de material examinado).

A Ilha Grande foi a que apresentou a maior incidência de animais com defeitos, com quase 30% do total de indivíduos dessa população. No município de Mangaratiba ocorreu a menor incidência, com pouco mais de 6% da amostra

apresentando más formações (Tabela 1). O teste qui-quadrado demonstrou que para indivíduos da Ilha Grande existe uma diferença significativa entre a frequência observada de anomalias e a frequência esperada ($\chi^2=55,68$; $p<0,0001$), assim como para a Ilha de Itacuruçá ($\chi^2=6,12$; $p=0,0134$) e Ilha da Marambaia ($\chi^2=13,02$; $p=0,0003$), embora essa relação não seja observada nas amostras de Mangaratiba ($\chi^2=0,02$; $p=0,8875$) e de Seropédica ($\chi^2=1,17$; $p=0,279$). O Teste de Homogeneidade Qui-Quadrado não revelou dependência significativa entre sexo e a ocorrência de anomalias ($\chi^2=0,023$; $p=0,88$).

18 anomalias foram detectadas entre os espécimes examinados (Ver Tabela 2), sendo a mais frequente Baquidactilia do pé esquerdo, que é a redução de um ou mais dedos do pé, mas sem a redução dos tarsos. Esta anomalia correu em 12 sapos (25,53% da amostra). Em ordem de frequência, as outras anomalias mais comuns na amostra foram: (a) Braquidactilia da mão esquerda e Braquidactilia da mão direita, ambos com cinco indivíduos (10,63% cada). Quase todas as anomalias observadas afetaram as patas (97,87%), com apenas uma fêmea adulta apresentando microcefalia, mas nesse mesmo indivíduo foram registradas micromelias dos braços e mãos e pernas e pés (Fig. 2). Quase todas as más formações foram registradas em adultos, com apenas dois indivíduos juvenis e nenhum recém-metamorfoseado na amostra apresentando anomalia (Tabela 2).

Discussão

As três populações insulares de *R. ornata* apresentam incidência de malformações significativamente mais elevada que 5%, que é um limiar proposto

por Lunde e Johnson (2012) para justificar a busca de causas atuando sobre essas populações e gerando os defeitos. A frequência de defeitos de quase 30% na Ilha Grande raramente é documentada na natureza (Ouellet *et al.* 1997, Lannoo 2008). Frequências de ocorrência de deformidades acima de 5% foram primeiramente relatadas por Hebard e Brunson (1963) para *Hylliola regilla*, com quase 20% dos indivíduos apresentando alguma deformidade, e depois em outros trabalhos para outras espécies de anfíbios (Meteyer *et al.* 2000, Williams *et al.* 2008), em geral com valores pouco superiores a 5% dos indivíduos nas populações estudadas (Lunde & Johnson 2012). Peltzer *et al.* (2011) encontrou frequência de anomalias de pouco mais de 16% em *R. arenarum* e 11% e 9,5% para *R. latinasus* e *R. schneideri*, respectivamente. Bessa-Silva *et al.* (2016) registraram frequência de defeitos de 20% em indivíduos de *R. marina* em uma de três ilhas em que a espécie ocorre na foz do Rio Amazonas, no norte do Brasil. Toledo e Ribeiro (2009), em estudo com uma população introduzida de *R. jimi* no arquipélago de Fernando de Noronha, nordeste do Brasil, registraram malformações em 71 de 159 indivíduos amostrados, uma frequência de 44,6% e consideravelmente mais alta que as amostras obtidas de populações fontes desta introdução no continente.

A frequência de fêmeas com defeitos não foi significativamente maior que a de machos, o que sugere que a presença de defeitos afeta os indivíduos indistintamente. Braquidactilia do pé esquerdo foi o defeito mais comum tanto em machos quanto em fêmeas, com nove e duas ocorrências respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por Toledo e Ribeiro (2009), porém para o pé direito, com 24 ocorrências em machos e 6 em fêmeas. Meteyer *et al.* (2000) encontrou Braquidactilia também como defeito mais comum entre indivíduos de

Lithobates pipiens, e isso pode sugerir que uma causa comum, com efeitos que atuem em anuros de um modo geral, deve estar presente. Além disso, em fêmeas também houve a mesma frequência de rotação digital nas mãos direita e esquerda, com duas ocorrências cada, o que só foi registrado por Toledo e Ribeiro (2009) para a mão direita e para os pés. Foram registradas anomalias em apenas dois indivíduos juvenis e em nenhum indivíduo recém-metamorfoseado, o que pode sugerir que os defeitos podem estar atrelados ao desenvolvimento dos indivíduos apenas após a metamorfose. É importante se ressaltar que, como as coletas que geraram essas amostras não foram desenhadas para esse estudo em particular, elas podem não ser representativas dessas populações. Ainda, embora a entrada de recém-metamorfoseados ocorra em grandes números, esse recrutamento é episódico (apenas em algum período depois das chuvas de verão na região) e esses indivíduos são mais suscetíveis à mortalidade por uma ampla gama de predadores em potencial (de Almeida *et al.* 2010, Banci *et al.* 2013).

Malformações em anuros podem ser causadas direta ou indiretamente por diversos fatores. Por exemplo, quanto a fatores físico-químicos, Blaustein *et al.* (1997) demonstraram que indivíduos expostos a radiação ultravioleta apresentam maior frequência de deformidades que indivíduos não expostos. Resultados parecidos foram encontrados por Ankley *et al.* (2000) para *Lithobates pipiens*, com indivíduos apresentando deformidades mesmo a taxas parciais de radiação ultravioleta. Bacon *et al.* (2013) demonstraram que em *R. marina* as anomalias são expressas principalmente por exposição direta a contaminantes químicos. Além disso, fatores biológicos como mudança da pressão predatória (Lannoo 2008), e infecção por parasitas (Goodman & Johnson 2011, Lunde &

Johnson 2012) também são bem conhecidos por promover o aumento da incidência de defeitos.

Em todas as ilhas aqui estudadas a frequência de anomalias nas populações de *R. ornata* esteve acima do esperado. Além disso, dentre essas ilhas, a que apresentou maior frequência de ocorrência de anomalias foi a ilha mais antiga e a com maior em área (Ilha Grande). É possível que esse fenômeno esteja atrelado a vários fatores não auto-excludentes, dentre eles: Menor pressão seletiva sobre os defeitos, ou seja, as anomalias observadas não limitam a sobrevivência e/ou reprodução devido a ausência de agentes de seleção natural que estariam presentes nas áreas continentais; e populações com tamanho reduzido, promovendo maiores chances de endocruzamento e o aparecimento de defeitos congênitos (Grammer *et al.* 2005). Em relação a maior frequência de defeitos na Ilha Grande que nas outras ilhas, provavelmente essa característica esteja atrelada ao maior tempo de isolamento (10 mil anos e 3 mil anos respectivamente) e consequentemente maior suscetibilidade a deriva gênica.

Além de tamanho populacional e isolamento, outros fatores não podem ser descartados, como por exemplo contaminação química, já que existem diversos empreendimentos instalados nas duas baías que poderiam causar tal efeito, como o Porto de Itaguaí (Companhia Docas do Rio de Janeiro 2016), situado próximo à ilha de Itacuruçá, e a Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto, instalada desde 1985, localizada próxima à Ilha Grande (Eletrobras 2016). Porém, se de alguma forma esses fatores estivessem atuando na área, seria esperado que afetassem populações continentais igualmente. Entretanto, a frequência de defeitos encontrada para Mangaratiba, que é bem próxima da baía, é significativamente menor do que a de qualquer das ilhas.

A contaminação por patógenos, como *Ribeiroa ondratae*, que causou anomalias em outros estudos (Sessions *et al.* 1999, Ballengée & Sessions 2009), também pode ser responsável pela maior incidência de anomalias nas populações insulares de *R. ornata*. Para averiguar se esse fator atua nas populações de anuros insulares amostradas, ainda são necessários mais estudos que visem a verificação desse aspecto.

Radiação ultravioleta também poderia ser uma causa dessa alta incidência, porém como todas as ilhas são muito próximas entre si (16km entre Ilha Grande e Ilha da Marambaia e 12km entre Ilha da Marambaia e Ilha de Itacuruçá), e como todas possuem cobertura vegetal parcialmente íntegra em níveis próximos, inclusive em relação ao continente, provavelmente as populações estão expostas a mesma quantidade de radiação ultravioleta. Assim esse fator não explicaria a incidência três vezes maior em uma ilha em detrimento das outras e dessas em relação ao continente, também muito próximo (12km da ilha mais distante).

Apesar de haver a necessidade de mais estudos acerca das causas da alta incidência de más formações em anuros, esse trabalho demonstra que essas populações insulares estão suscetíveis a anomalias que podem ser cruciais em processos de extinção. O maior aprofundamento nesse aspecto pode ser decisivo na elucidação de ações práticas para a conservação da espécie e assim na manutenção da biodiversidade insular.

Agradecimentos

O trabalho de campo em uma ilha, Ilha de Itacuruçá, foi possível através da ajuda de Taylan Moretti e seu pai João Moretti. A Marinha do Brasil nos deu suporte para trabalhar na Ilha da Marambaia. Durante várias expedições tanto em ilhas quanto em áreas do continente, RR e HRS foram auxiliados por Gustavo Colaço, Yumi Moliné e Renato Fernandes. Somos agradecidos ao Dr. André Luiz Gomes de Carvalho pela revisão desse cartigo. RR reebou bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES).

Referências.

- ANKLEY, G. T., J. E. TIETGE, G. W. HOLCOMBE, D. L. DEFOE, S. A. DIAMOND, K. M. JENSEN, AND S. J. DEGITZ. 2000. Effects of ultraviolet light and methoprene on survival and development of *Rana pipiens*. Canadian Journal of Zoology: 9.
- BACON, J. P., C. E. FORT, B. TODHUNTER, M. MATHIS, AND D. J. FORT. 2013. Effects of Multiple Chemical, Physical, and Biological Stressors on the Incidence and Types of Abnormalities Observed in Bermuda's Cane Toads (*Rhinella marina*). Journal of Experimental Zoology: 20.
- BALLENGÉE, B., AND S. K. SESSIONS. 2009. Explanation for missing limbs in deformed amphibians. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution 312B: 770-779.
- BANCI, K. R. S., N. F. T. VIERA, P. S. MARINHO, P. D. O. CALIXTO, AND O. A. V. MARQUES. 2013. Predation of *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae) by the alien crayfish (Crustacea, Astacidae) *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in São Paulo, Brazil. Herpetology Notes 6: 339.

- BELO, W. C., G. DIAS, AND M. S. DIAS. 2002. O fundo marinho da baía da Ilha Grande, RJ: o relevo submarino e a sedimentação no canal central. *Revista Brasileira de Geofísica* 20: 5-15.
- BESSA-SILVA, A. R., M. VALLINOTO, D. SODRÉ, D. B. DA CUNHA, D. HADAD, N. E. ASP, I. SAMPAIO, H. SCHNEIDER, AND F. SEQUEIRA. 2016. Patterns of Genetic Variability in Island Populations of the Cane Toad (*Rhinella marina*) from the Mouth of the Amazon. *Plos One* 11: 15.
- BITTENCOURT-SILVA, G. B., AND H. R. SILVA. 2014. Effects of fragmentation and sea-level changes upon frog communities of land-bridge islands off the southeastern coast of Brazil. *PLoS ONE* 9.
- BITTENCOURT-SILVA, G. B., AND H. R. D. SILVA. 2013. Insular Anurans (Amphibia: Anura) of the coast of Rio de Janeiro, southeast, Brazil. *Check List* 9: 225-234.
- BLAUSTEIN, A. R., AND P. T. JOHNSON. 2003. The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1: 87-94.
- BLAUSTEIN, A. R., J. M. KIESECKER, D. P. CHIVERS, AND R. G. ANTHONY. 1997. Ambient UV-B radiation causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 3.
- COHEN, M. M. 2001. Frog decline, frog malformations, and a comparison of frog and human health. *American Journal of Medical Genetics*: 8.
- COMPANHIA DOCAS DO RIO DE JANEIRO. 2016. Porto de Itaguaí.
<http://www.portosrio.gov.br/itaguaí/index.htm>.
- DE ALMEIDA, S. C., Y. F. MESSAS, AND P. J. P. CICCHI. 2010. Predation on newly metamorphosed toad *Rhinella ornata* (Anura: Bufonidae) by the spider, *Lycosa erythrogna* (Araneae: Lycosidae). *Herpetology Notes* 3: 2.

DEGARADY, C. J., AND R. S. HALBROOK. 2006. Using Anurans as Bioindicators of PCB Contaminated Streams. *Journal of Herpetology* 40: 4.

ELETROBRAS. 2016. Angra 1.
<http://www.eletronuclear.gov.br/aempresa/centralnuclear/angra1.aspx>.

FOSTIER, A.-H., M. FORTI, J. GUIMARAES, A. MELFI, R. BOULET, C. E. SANTO, AND F. KRUG. 2000. Mercury fluxes in a natural forested Amazonian catchment (Serra do Navio, Amapa State, Brazil). *Science of the Total Environment* 260: 201-211.

GOODMAN, B. A., AND P. T. JOHNSON. 2011. Disease and the extended phenotype: parasites control host performance and survival through induced changes in body plan. *PLoS One* 6: e20193.

GRAMMER, T. C., M. K. KHOKHA, M. A. LANE, K. LAM, AND R. M. HARLAND. 2005. Identification of mutants in inbred *Xenopus tropicalis*. *Mechanisms of Development*: 10.

HADDAD, C. F. B., A. J. CARDOSO, AND L. M. CASTANHO. 1990. Híbridação natural entre *Bufo ictericus* e *Bufo crucifer* (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 50: 739-744.

HEBARD, W. B., AND R. B. BRUNSON. 1963. Hind limb anomalies of a western Montana population of the pacific tree frog, *Hyla regilla* Baird and Girard. *Copeia* 1963: 570-572.

ILHA, P., AND L. SCHIESARI. 2014. Lethal and Sublethal Effects of Inorganic Nitrogen on Gladiator Frog Tadpoles (*Hypsiboas faber*, Hylidae). *Copeia* 2014: 221-230.

JOHNSON, P. T., K. B. LUNDE, E. G. RITCHIE, AND A. E. LAUNER. 1999. The effect of trematode infection on amphibian limb development and survivorship. *Science* 284: 802-804.

- JOHNSON, P. T., K. B. LUNDE, E. G. RITCHIE, J. K. REASER, AND A. E. LAUNER. 2001. Morphological abnormality patterns in a California amphibian community. *Herpetologica*: 336-352.
- LANNOO, M. 2008. The collapse of aquatic ecosystems: malformed frogs. Berkeley: University of California Press.
- LEBBORONI, M., M. BELLAVITA, G. RICCHIARDINO, AND G. CHELAZZI. 2006. Potential use of anurans as indicators of biological quality in upstreams of central Italy. *Amphibia-Reptilia*: 7.
- LUNDE, K. B., AND P. T. JOHNSON. 2012. A practical guide for the study of malformed amphibians and their causes. *Journal of Herpetology* 46: 429-441.
- METEYER, C. U. 2000. Field guide to malformations of frogs and toads: with radiographic interpretations. US Fish and Wildlife Service.
- METEYER, C. U., I. K. LOEFFLER, J. F. FALLON, K. A. CONVERSE, E. GREEN, J. C. HELGEN, S. KERSTEN, R. LEVEY, L. EATON - POOLE, AND J. G. BURKHART. 2000. Hind limb malformations in free - living northern leopard frogs (*Rana pipiens*) from Maine, Minnesota, and Vermont suggest multiple etiologies. *Teratology* 62: 151-171.
- MONTESINOS, R., H. R. D. SILVA, AND A. L. G. D. CARVALHO. 2012. The 'Island Rule' Acting on Anuran Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. *Biotropica* 44: 506-511.
- NERY, J. R. C., AND D. M. BONOTTO. 2011. 210 Pb and composition data of near-surface sediments and interstitial waters evidencing anthropogenic inputs in Amazon River mouth, Macapá, Brazil. *Journal of environmental radioactivity* 102: 348-362.
- OLSON, S. L. 1981. Natural history of vertebrates on Brazilian islands of the mid south Atlantic. *National Geographic Society Research Reports* 13: 12.

- OUELLET, M., J. BONIN, J. RODRIGUE, J.-L. DESGRANGES, AND S. LAIR. 1997. Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of wildlife diseases* 33: 95-104.
- PELTZER, P. M., R. C. LAJMANOVICH, L. C. SANCHEZ, A. M. ATTADAMO, C. M. JUNGES, C. L. BIONDA, A. L. MARTINO, AND A. BASSÓ. 2011. Morphological abnormalities in Amphibian populations from the mid-eastern region of Argentina. *Herpetological Conservation and Biology* 6: 11.
- SCHIESARI, L., B. GRILLITSCH, AND H. GRILLITSCH. 2007. Biogeographic biases in research and their consequences for linking amphibian declines to pollution. *Conservation Biology* 21: 7.
- SESSIONS, S. K., R. A. FRANSSEN, AND V. L. HORNER. 1999. Morphological clues from multilegged frogs: are retinoids to blame? *Science* 284: 800-802.
- SILVA, H. R. D., A. L. G. D. CARVALHO, AND G. B. BITTENCOURT-SILVA. 2008. Frogs of Marambaia: a naturally isolated Restinga and Atlantic Forest remnant of southeastern Brazil. *Biota Neotropica* 8: 0-0.
- STEVAUX, M. N. 2002. A new species of *Bufo* Laurenti (Anura, Bufonidae) from northeastern Brazil. *Revista brasileira de Zoologia* 19: 235-242.
- SUGUIO, K. 2010. Geologia do Quaternário e mudanças ambientais. Oficina de Textos, São Paulo.
- TEAM, R. C. 2016. R: A language and environment for statistical computing. *In* R. F. f. S. Computing (Ed.), Vienna, Austria.
- TOLEDO, L. F., AND R. S. RIBEIRO. 2009. The Archipelago of Fernando de Noronha: An Intriguing Malformed Toad Hotspot in South America. *EcoHealth*: 6.
- TOLLEDO, J., AND L. TOLEDO. 2015. Blind toads in paradise: the cascading effect of vision loss on a tropical archipelago. *Journal of Zoology* 296: 167-176.

WILLIAMS, R. N., D. H. BOS, D. GOPURENKO, AND J. A. DEWOODY. 2008. Amphibian malformations and inbreeding. *Biology Letters* 4: 3.

Tabelas

Tabela 1. Incidência de más formações em indivíduos de *R. ornata* por localidade.

Local	No. De espécimens/ No. malformações (%)				
	<i>n</i>	Recém- Metamorfoseados	Juvenil	Fêmea Adulta	Macho Adulto
Ilha Grande	47/14 (29.8%)	2/0 (0%)	6/1 (16.66%)	13/5 (38.46%)	26/8 (30.76%)
Ilha de Itacuruçá	41/6 (14.6%)	---	2/0 (0%)	---	39/6 (15.38%)
Ilha da Marambaia	85/12 (12.9%)	19/0 (0%)	7/0 (0%)	16/3 (18.75%)	43/8 (18.6%)
Seropédica	26/3 (11.53%)	---	2/0 (0%)	7/1 (14.28%)	17/2 (11.76%)
Mangaratiba	46/3 (6.52%)	1/0 (0%)	32/1 (3.12%)	13/2 (15.38%)	---
Todas as localidades	245/39 (15.92%)	22/0 (0%)	49/2 (4.08%)	49/11 (22.44%)	125/26 (20.8%)

Tabela 2. Classificação de defeitos ocorrentes em *R. ornata*. (RM) Recém

Metamorfoseado, (J) Juvenil (FA) Fêmea Adulta, (MA) Macho Adulto.

Tipo de Malformação	Descrição	RM	J	FA	MA
<i>Cephalica</i>					
Microcefalia	Cabeça pequena, mandíbula superior e inferior encurtada	0	0	1	0
<i>Membros dianteiros</i>					
Braquidactilia na mão direita	Número anormal de falanges ou metatarsos	0	0	1	4
Braquidactilia na mão esquerda	Número anormal de falanges ou metatarsos	0	0	1	4
Hipertrofia de falanges na mão direita	Falanges anormalmente grandes	0	0	1	0
Micromelia nos braços	Tamanho dos braços reduzido	0	0	1	0
Ectrodactilia na mão direita	Dedo ausente na mão direita	0	1	1	1
Polidactilia na mão esquerda	Dedo extra	0	0	1	1
Rotação do dedo na mão direita	Rotação do osso em 90º	0	0	2	0
Rotação do dedo na mão esquerda	Rotação do osso em 90º	0	0	2	1
Microdactilia na mão esquerda	Reduced digit	0	0	0	1
Ectromelia radio-ulnar na mão direita	Segmentos do braço ausentes na posição distal rádio-ulnar	0	0	0	1
Micromelia nas mãos	Tamanho das mãos reduzido	0	0	1	2
<i>Membros traseiros</i>					
Braquidactilia no pé direito	Número anormal de falanges e metatarsos normais	0	0	0	2
Braquidactilia no pé esquerdo	Número anormal de falanges e metatarsos normais	0	1	2	9
Hipertrofia das falanges no pé esquerdo	Falanges anormalmente grandes	0	0	0	1
Ectromelia tibia-fibular no pé esquerdo	Segmentos da perna ausentes distalmente à tibia-fíbula	0	0	0	1
Hipertrofia do tarso no pé esquerdo	Tarso anormalmente grande	0	0	0	2
Micromelia nas pernas	Tamanho reduzido das pernas	0	0	1	0

Figuras

Figura 1. Localização das populações de *R. ornata* examinadas para quantificação das malformações.

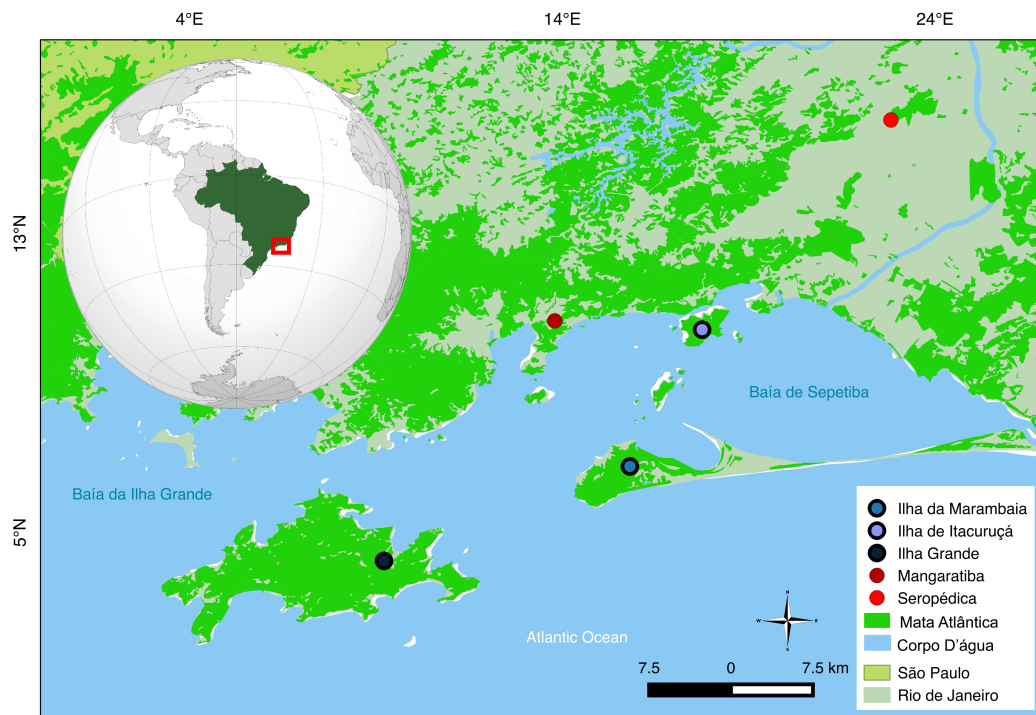
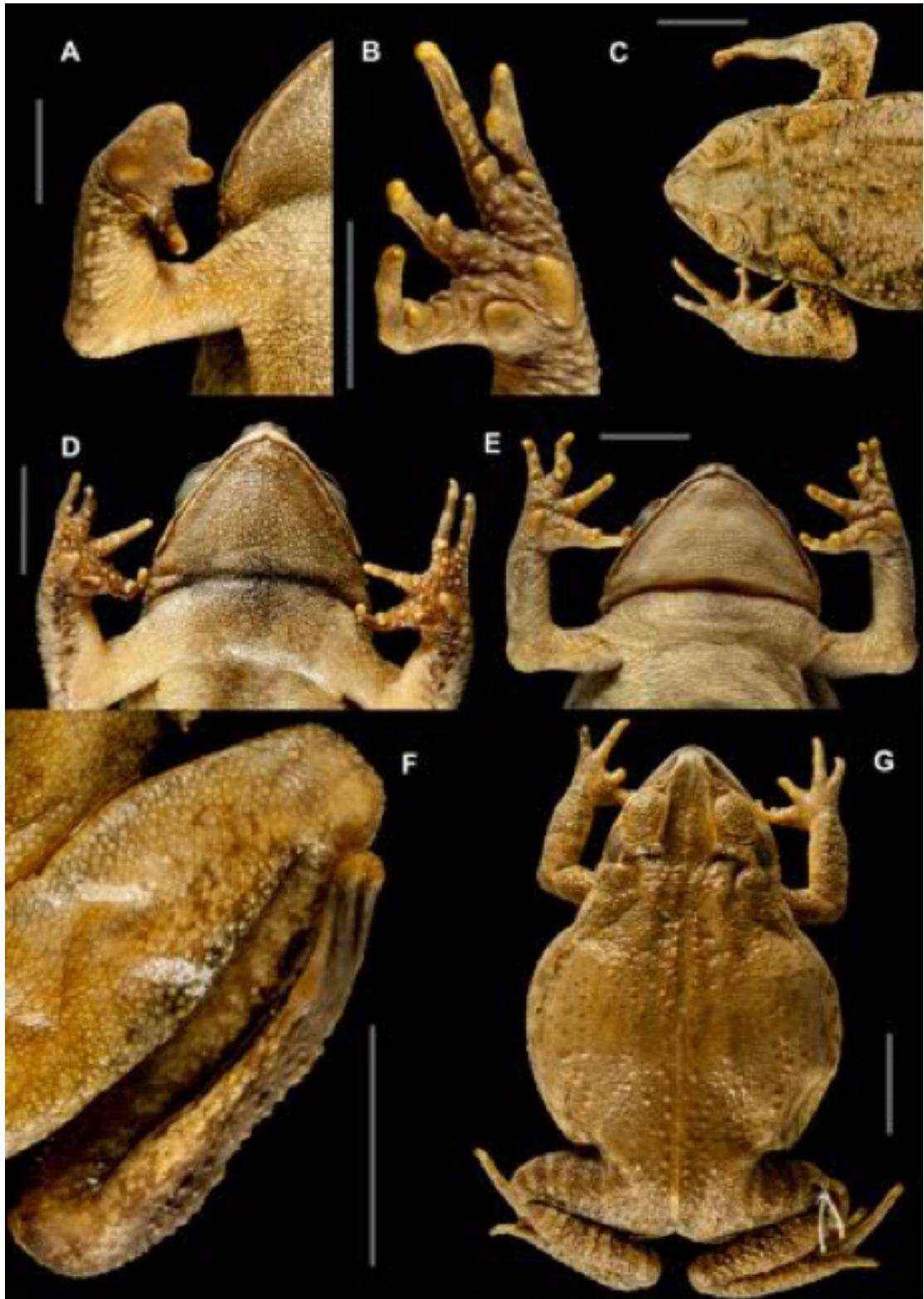


Figura 2. Malformações em *R. ornata* de populações insulares: Braquidactilia (A, D e E), Polidactilia (B), Ectromelia radio-ulnar (C), Rotação digital (D), Ectromelia tibia-fibular (E) e Microcefalia e Micromelia (F). (Escala 1cm).



Apêndice – Lista de material examinado

RU072, RU100, RU160, RU161, RU162, RU163, RU164, RU165, RU166, RU167, RU168, RU169, RU183, RU3489, RU3490, RU3491, RU3492, RU3495, RU3578, RU3646, RU3737, RU3752, RU3753, RU3760, RU3761, RU3762, RU3874, RU3882, RU3888, RU3889, RU3890, RU4299, RU4300, RU4301, RU4302, RU4303, RU4304, RU4305, RU4306, RU4308, RU4309, RU4310, RU4311, RU4312, RU4313, RU4314, RU4315, RU4316, RU4317, RU467, RU468, RU469, RU470, RU480, RU4837, RU4838, RU4840, RU4841, RU4842, RU4843, RU4844, RU4845, RU4846, RU4847, RU4848, RU4849, RU4850, RU4851, RU4852, RU4853, RU4854, RU4855, RU4856, RU4857, RU4858, RU4859, RU4860, RU4861, RU4881, RU4882, RU4891, RU4894, RU4967, RU4968, RU4969, RU4970, RU4971, RU5223, RU5224, RU5225, RU5226, RU5227, RU5228, RU5229, RU5230, RU5231, RU5232, RU5233, RU5234, RU5235, RU5236, RU5237, RU5238, RU5239, RU5240, RU5241, RU5242, RU5244, RU5245, RU5246, RU5247, RU5248, RU5250, RU5251, RU5252, RU5253, RU5254, RU5255, RU5256, RU5257, RU5258, RU5259, RU5260, RU5271, RU5275, RU5276, RU5419, RU5421, RU5420, RU5429, RU5430, RU5431, RU5560, RU5561, RU5562, RU5969, RU6065, RU6066, RU6213, RU6656, RU6816, RU6973, RU6974, RU6975, RU7078, RU7175, RU7176, RU396, RU476, RU1387, RU145, RU1470, RU1474, RU1491, RU1492, RU1493, RU1494, RU1495, RU1496, RU1497, RU1498, RU1499, RU1500, RU1501, RU1502, RU1503, RU1518, RU1519, RU1520, RU1521, RU1522, RU1623, RU1557, RU1558, RU1559, RU1574, RU1578, RU1581, RU1582, RU1583, RU1597, RU1598, RU1599, RU1600, RU1601, RU1602, RU1603, RU1604, RU1605, RU1616, RU1617,

RU1618, RU1619, RU1901, RU1902, RU1903, RU2242, RU2243, RU3436,
RU3437, RU3438, RU3439, RU3440, RU3441, RU3442, RU3444, RU3445,
RU5310, RU5424, RU5433, RU5434, RU5435, RU5436, RU6470, RU6471,
RU6472, RU6473, RU6474, RU7174, RU7909, RU9286, RU9288, RU9289,
RU9290, RU9291, RU9292, RU9293, RU9294, RU9295, RU9296, RU9297,
RU9297, RU9298, RU9299, RU9300, RU9301, RU9302, RU9303, RU9304,
RU9305, RU9307, RU9308, RU9309, RU9310, RU9311.

Capítulo II

Title: Are the Relationship Between Age at Sexual Maturity Distinct in Insular Population of Toads *Rhinella ornata* (Anura: Bufonidae)?

Authors: Raoni Rebouças ^{1,2}, Hélio Ricardo da Silva ², Delfi Sanuy ³, Mirco Solé ⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Biologia Animal, Universidade Federal do Espírito Santo. Avenida Fernando Ferrari, 514, Vitória – ES, Brazil.
E-mail: raonisreboucas@gmail.com

² Laboratório de Herpetologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Caixa Postal: 74524, CEP: 23897-970, Seropédica – RJ, Brazil.

³ Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida. Avinguda de l'Alcalde Rovira Roure, 191, E-25198, Lleida, Catalunya, Spain.

⁴ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz. Rodovia Jorge Amado, km 16 – Salobrinho, CEP: 45662-900, Ilhéus – BA, Brazil.

Running title: Age and Sexual Maturity in Insular Toads

Corresponding Author: Raoni Rebouças

Resumo

Esse trabalho tem objetivo de verificar se existem diferenças na idade, longevidade e maturidade sexual de machos de *Rhinella ornata* de populações insulares. Os estudos foram feitos com base em indivíduos das ilhas Grande, Marambaia e Itacuruçá e na área continental adjacente no estado do Rio de Janeiro. As idades foram estimadas através da identificação e contagem de anéis de crescimento em secções de falanges (esqueletocronologia) e a maturidade sexual através de caracteres sexuais secundários (excrecências nupciais). A maturidade sexual é atingida com um ano de idade e os espécimes mais antigos têm quatro anos. As populações da Ilha Grande e do continente apresentam correlação positiva entre idade e tamanho, porém isso não é observado nas ilhas da Marambaia e de Itacuruçá. Espécimes da Ilha Grande e da Ilha da Marambaia parecem estar aptos para reprodução em tamanho significativamente menor que as populações do continente. Quando a idade dos espécimes mais velhos é comparada com o que já foi estudado para outras espécies tropicais, parece existir um padrão de longevidade. Além disso, essa espécie apresentam crescimento determinado, porém essa afirmação requer mais estudos. O ritmo diferenciado de crescimento pode ser resultado da menor disponibilidade de recursos na ilha.

Palavras-chave: , , esqueletocronologia, ilhas, Regra de Ilhas.

Introdução

No século XX, o trabalho seminal de MacArthur e Wilson (1967) revitalizou o interesse por comunidades insulares (e. g. Diamond 1969; Lynch & Johnson 1974; Gilpin & Diamond 1976), principalmente por desenvolver um modelo explicativo para a diversidade de organismos em ilhas. No entanto, do ponto de vista da variação morfológica em espécies isoladas em ilhas, foram os trabalhos de Foster (1964) e Van Valen (1973) que apresentam, na forma de uma “Regra de Ilhas”, uma peculiaridade intrínseca das populações de animais insulares. Esta regra estabelece que o tamanho dos indivíduos de uma população insular, em virtude do isolamento total ou parcial, é diferente daqueles de populações continentais (Van Valen 1973; Lomolino 1985; Lomolino 2005). Duas tendências são relatadas para as populações insulares quando comparadas as continentais: nanismo em espécies com indivíduos de grande porte e gigantismo em espécies com indivíduos de pequeno porte (Van Valen 1973; Lomolino 1985; Lomolino 2005). Essas tendências foram descritas para diversos grupos de vertebrados (e. g. Clegg *et al.* 2002; Palmer 2002; Benton *et al.* 2010), mas ainda não existe consenso no que se refere a suas causas (e. g. Meiri, Dayan & Simberloff 2004; Meiri, Cooper & Purvis 2008).

De um modo geral, entre os vertebrados, os mamíferos são os mais estudados quanto à Regra de Ilhas (e. g. Foster 1964; Lomolino 1985; Raia & Meiri 2006), entretanto há diversos exemplos desse efeito em outros grupos, como em quelônios, no caso da tartaruga gigante *Geochelone elephantopus* das Ilhas Galápagos (MacFarland, Villa & Toro 1974) e, em Squamata, o lagarto varanídeo *Varanus komodoensis*, da ilha de Komodo, na Indonésia (Meiri 2007). Estudos abordando esses aspectos com populações de anfíbios anuros são escassos. No entanto, estudos recentes demonstram que o efeito de alteração no tamanho

também ocorre entre os anfíbios, que apresentam tanto espécies em que os indivíduos nas ilhas são maiores quanto espécies em que os indivíduos insulares são menores (e. g. Castellano & Giacoma 1998; Wu, Li & Murray 2006; Mageski *et al.* 2015) que em populações continentais da mesma espécie. Alguns estudos associam as alterações de tamanho a características da história natural das espécies envolvidas (Palkovacs 2003; Raia & Meiri 2006) enquanto outros exploram a ideia de que seja táxon-específica (Meiri, Cooper & Purvis 2008; Lomolino *et al.* 2012).

No primeiro estudo do hemisfério sul sobre alteração de tamanho em populações de anfíbios insulares, Montesinos, Silva and Carvalho (2012) apresentam dados indicativos de que indivíduos de *Rhinella ornata*, em algumas ilhas, no Rio de Janeiro, são relativamente menores que os do continente próximo. A redução de tamanho nessa espécie pode estar correlacionada com a antecipação da maturidade sexual, uma vez que em anuros, quando se atinge esse estágio, os indivíduos tendem a reduzir a taxa de crescimento corporal, com tendência à estabilização do tamanho (e. g. Marangoni *et al.* 2012; Cajade, Marangoni & Gangenova 2013; Zhang *et al.* 2013; Bionda *et al.* 2015). No entanto, antes de se poder avaliar possíveis hipóteses explicativas sobre as razões que levaram a fixação de tamanhos menores nos indivíduos insulares, é necessário que se investigue outras variáveis associadas ao nanismo nessas populações. Nesse sentido, é possível verificar se os indivíduos menores representam indivíduos mais jovens nas ilhas, ou seja, se o processo de maturação sexual foi acelerado, relativamente às populações do continente.

A presença de excrescências nupciais tem sido utilizada principalmente por taxônomos de anfíbios (e. g. Mendelson III *et al.* 2008) como indicativo de maturidade sexual. Como seu desenvolvimento depende de níveis mais altos de hormônios testiculares (Izzo *et al.* 1982), as excrescências nupciais podem ser utilizadas como “proxies” do início da atividade nos machos. Por exemplo, em indivíduos subadultos de *Pelophylax nigromaculatus*

(Ranidae), com testículos retirados e sem ocorrência de excrescências nupciais, a administração de testosterona promoveu a ocorrência dessas excrescências, mais acentuada com a administração de estradiol que só mostrou atividade em aplicação conjunta com testosterona (Iwasawa & Kobayashi 1974). Em algumas espécies a ocorrência dessas estruturas pode ser sazonal, e depende do período mais ativo reprodutivamente, como em *Hoplobatrachus rugulosus* (Kao *et al.* 1994). Portanto, é razoável supor que essas estruturas represente um bom indicativo de maturidade sexual em anfíbios anuros de um modo geral.

Portanto esse trabalho tem o objetivo de: (i) investigar a correlação entre maturidade sexual e idade tanto em populações insulares como nas continentais de *Rhinella ornata*, e assim compreender se os indivíduos menores nas ilhas estão se reproduzindo mais precocemente; e (ii) explorar a relação entre localidade e idade dos indivíduos mais velhos nas amostras.

Material e Métodos

Espécie

Rhinella ornata (Spix, 1824) é uma espécie de bufonídeo do grupo *R. crucifer* (Baldiessa Jr, Caramaschi & Haddad 2004). Como a maioria dos bufonídeos sul americanos, possui atividade predominantemente noturna, com juvenis demonstrando também atividade diurna (Maia-Carneiro *et al.* 2013). É terrestre e se alimenta de uma variedade de artrópodes, principalmente insetos (Maia-Carneiro *et al.* 2013). Para reprodução, se utiliza de poças temporárias ou remansos de rios e riachos, onde deposita seus ovos em fitas (Pombal Jr & Haddad 2005), como é comum para várias espécies da família (e. g. Pereyra *et al.* 2015; Medeiros *et al.* 2016). Populações desta espécie ocorrem desde o norte do Rio de Janeiro até o norte do Paraná (Frost 2016).

Área de estudo

Os espécimes que compõem a amostra são oriundos do Rio de Janeiro, entre os municípios de Itaguaí (22°55'20"S, 43°46'35"O) e Angra dos Reis (23°00'20"S, 44°18'56"O). Para fins de análise, espécimes desses locais foram considerados como pertencentes a uma população continental. Para as amostras insulares foram utilizados indivíduos de três ilhas adjacentes aos pontos do continente, que são as únicas ilhas onde a espécie ocorre (Bittencourt-Silva & Silva 2013): Ilha de Itacuruçá (22°56'27"S, 43°56'33"O) e Ilha da Marambaia (23°03'20"S, 43°57'22"O), localizadas na Baía de Sepetiba, e Ilha Grande (23°08'24"S, 44°13'19"O), na Baía da Ilha Grande (Figura 1).

As ilhas representam pontos mais altos do relevo, que se tornaram isolados do restante do continente como resultado de transgressões marinhas que ocorreram ao fim do Último Máximo Glacial (LGM), há 18 mil anos. Durante esse processo, o nível marinho foi elevado desde o nível de 127 m abaixo, até 3 metros acima do atual, como resultado de um aquecimento global natural e derretimento de grandes geleiras (Suguio 2010). Essa elevação há 10 mil anos atingiu nível suficiente para iniciar a inundação da área das baías (Sepetiba e Ilha Grande), que eram cobertas com vegetação de Mata Atlântica (Belo, Dias & Dias 2002), e isolar, nesta área, o que hoje conhecemos como a Ilha Grande. Depois, com a contínua elevação, há 8 mil anos a Ilha da Marambaia foi isolada, e consequentemente a Ilha de Itacuruçá há 7 mil anos. Após essa primeira elevação, entre 4.5 e 5 mil anos atrás, o nível médio marinho regrediu até 10 metros abaixo do atual (Suguio 2010), conectando novamente as Ilhas de Itacuruçá e da Marambaia com o continente. Uma nova elevação de aproximadamente 10 m de profundidade até 3 m acima do atual há 3 mil anos isolou essas ilhas novamente (Suguio 2010), e a posterior redução até o nível marinho atual mantém a Ilha de Itacuruçá isolada do continente por um canal de 5 m de profundidade e 200 m de largura,

enquanto a Ilha da Marambaia permanece conectada por uma faixa estreita de areia com 100 m de largura no ponto mais estreito (Bittencourt-Silva & Silva 2014). Ainda assim, as populações da Ilha da Marambaia permanecem isoladas por não apresentar na área de conectividade habitats propícios para reprodução de várias espécies de anfíbios dependente de áreas florestais e de poças para reprodução (Silva, Carvalho & Bittencourt-Silva 2008). A Ilha Grande também está isolada desde a primeira transgressão da área da baía e é, consequentemente, a ilha mais velha, com 10 mil anos. A Ilha de Itacuruçá é a mais recente, estando isolada há 3 mil anos

Morfometria das Amostras

Para todos os indivíduos foi medido o comprimento rostro-cloacal (CRC) com paquímetro digital de precisão 0.01 mm. Apenas espécimes machos foram utilizados. Todos os espécimes utilizados pertencem a Coleção de Herpetologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Além da morfometria, como forma indireta de acessar a idade dos espécimes, foram registrados para a mão direita o número de dedos cobertos pelas excrescências nupciais. Os dedos foram numerados (II, III, IV e V) seguindo-se a proposta de Alberch e Gale (1985) de que, entre os anfíbios anuros o dedo I não se desenvolve. Dessa forma, foi avaliada a presença/ausência de excrescências nupciais em quatro áreas diferentes da mão: ao longo da face interna do dedo II, III, e IV ou recobrindo a face interna do tubérculo metacarpal interno (Figura 2). Foram considerados adultos todos os indivíduos que apresentaram alguma excrescência nupcial (Singhas & Dent 1975; Izzo *et al.* 1982; Lynch & Blackburn 1995).

Esqueletocronologia

As análises de esqueletocronologia foram feitas seguindo metodologia descrita em Smirina (1994) e Sinsch (2015). Para tal, de cada espécime analisado, foi retirada a terceira falange do dedo IV e submetida ao processo de descalcificação em HNO₃ 3% por 1 hora, lavada com água destilada por dois períodos de 1 hora e armazenados em solução tampão fosfato-salina (PBS) por 48 horas. Após esse processo, as falanges descalcificadas foram congeladas a -27°C em gel NEG50 e cortadas transversalmente em criostato a 16 µm de espessura. As secções foram aderidas a lâminas e imersas em hematoxilina de Erlich por 30 minutos, em etanol 70% por 1 minuto, em etanol 100% por 6 minutos, duas vezes em Xylol por 15 minutos e secadas a temperatura e ventilação ambientes por 48 horas. Após esse processo, todos os cortes foram analisados sob microscópio com objetivo de contagem de linhas de interrupção de crescimento (LAG) como proposto por Sinsch et al. (2007). Cada LAG foi considerada com um ano de vida após a metamorfose. Linhas de metamorfose não foram incluídas na contagem, de forma que espécimes com presença apenas dessa linha foram classificados como apresentando idade zero. Linhas duplas foram consideradas para contagem como apenas um ano.

Análises estatísticas

A normalidade dos dados morfométricos foi verificada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Foi feito um teste homogeneidade Qui-Quadrado para verificar se existe dependência significativa entre a idade e a presença de excrescências considerando todos os indivíduos. Para verificar se existe correlação entre idade e medida de comprimento rostro-cloacal (SVL) para amostras de cada ilha e do continente e de forma geral, considerando todas as ilhas juntas, foi feito um teste de correlação de Pearson. A análise de variância (ANOVA) de um fator foi utilizada com o intuito de verificar se existe diferença significativa entre as médias de idade entre as localidades (cada ilha e o continente). Além disso, foi utilizado o

teste *t* de *Student* para verificar se o SVL na idade de maturidade sexual estimada (ESM) é significativamente diferente entre a amostra de cada ilha e a do continente. O modelo de crescimento foi baseado no proposto por von Bertalanffy (1938) seguindo a seguinte equação:

$$L_t = L_{inf} - (L_{inf} - L_0)e^{-k(t-t_0)}$$

Onde L_t = Comprimento total; L_{inf} = tamanho máximo assintótico; L_0 = tamanho inicial; k = constante de crescimento que define a forma da curva; t = tempo estimado em anos (nesse estudo, t_0 é assumido como 0, já que o tempo antes da metamorfose não foi considerado para fins de análise).

Todas as análises foram feitas em R 3.3.0 (R Core Team 2016) com pacote FSA (Ogle 2016) e intervalo de confiança de 95%. Gráficos foram produzidos com auxílio do pacote ggplot2 (Wickham 2009).

Resultados

Foram analisados 116 espécimes de *Rhinella ornata*, sendo 62 indivíduos de localidades no continente, 20 da Ilha Grande, 27 da Ilha de Itacuruçá e 21 da Ilha da Marambaia. Foram examinadas 31322 secções para observação de LAG's. Em todos os indivíduos foi possível a observação das LAG's apesar das secções apresentarem característica esponjosa que dificulta a visualização (Figura 4). Os espécimes, de forma geral, variaram em comprimento rostro-cloacal entre 32.8 mm e 80.46 mm, com média de 62.92 ± 8.52 mm. Com base nos anéis de crescimento a idade média das amostras foi estimada de 1.5 ± 0.79 anos, idade modal de 1 ano e os mais velhos tinham 4 anos (Figura 3).

A área coberta pelas excrescências do tubérculo metacarpal interno é contínua com aquela do dedo II, de forma que as excrescências nupciais estão distribuídas desde a parte interna distal do dedo II até metade interna do tubérculo metacarpal interno. Nos dedos III e IV as excrescências se distribuem por toda a extensão do dedo, porém no dedo III estão concentradas na parte dorsal, enquanto no dedo IV estão reduzidas à parte lateral interna (Figura 2). Nenhum dos indivíduos recém metamorfoseados, menores que 50 mm e com idade estimada de zero anos pós metamorfose, apresentou excrescência nupcial, enquanto que com 1 ano ($n = 54$) quase todos os indivíduos apresentaram excrescências nesta área. Com 2 anos todos os indivíduos apresentaram excrescência nupcial no dedo II e no tubérculo metacarpal interno e com 3 anos todos apresentaram excrescências no dedo II, III e no tubérculo metacarpal interno (Tabela 1) (Figura 2).

Há correlação significativa entre comprimento rostro-cloacal e idade quando consideradas todas as localidades ($t = 10.233$; $p < 0.001$) e separadamente na população da Ilha Grande ($t = 2.214$; $p = 0.039$) e na do continente ($t = 11.516$; $p < 0.001$). Entretanto não houve correlação significativa para a Ilha da Marambaia ($t = 1.047$; $p = 0.308$) e para a Ilha de Itacuruçá ($t = 1.389$; $p = 0.177$). O teste de homogeneidade Qui-Quadrado revelou que a ocorrência de excrescências nupciais nos dedos é altamente relacionada a idade (dedo 2: $\chi^2 = 87.087$, $p < 0.001$; dedo 3: $\chi^2 = 74.697$, $p < 0.001$; dedo 4: $\chi^2 = 46.24$, $p < 0.001$).

O modelo de crescimento de von Bertalanffy caracteriza-se por ascendência mais evidente da curva até a idade de 1 ano e, apesar de ser possível observar uma tendência, não é possível evidenciar um patamar de total estabilização da curva (Figura 5). A ANOVA revelou que não existe diferença significativa entre a média de idade por localidade ($F = 1.623$; $p = 0.188$) e os resultados do teste t indicam que indivíduos da população da Ilha Grande têm tamanho no início do aparecimento das excrescências significativamente menor que indivíduos do continente ($t = 5.064$; $p < 0.001$) assim como indivíduos da população da Ilha da

Marambaia ($t=1.767$; $p=0.044$), porém isso não foi observado na população da Ilha de Itacuruçá, que não apresenta diferença significativa no tamanho na ESM em relação ao continente ($t=1.8947$; $p=0.06$).

Discussão

Para anfíbios poucos trabalhos foram desenvolvidos comparando o tamanho dos indivíduos de uma mesma espécie no continente e ilhas apresentando possíveis causas para a modificação de tamanho nas ilhas. Para algumas espécies foi inferido gigantismo, como em *Bufo viridis* (Castellano & Giacoma 1998) e *Phyllodytes luteolus* (Mageski *et al.* 2015), porém *Fejervarya limnocharis* apresentou tanto gigantismo quanto nanismo (Wu, Li & Murray 2006), e em *Rhinella ornata* resultados demonstraram que houve nanismo em duas das três ilhas amostradas (Montesinos, Silva & Carvalho 2012). Em todos esses casos tamanho dos indivíduos está muito abaixo do limiar proposto por Lomolino (2005) para alterações de tamanho ocorra. Montesinos, Silva and Carvalho (2012) propõem que a escassez de recursos alimentares em ilhas pode ser um fator associado a redução de tamanho nos indivíduos das populações insulares de *R. ornata*. Esta hipótese se apoia na redução significativa de diversidade em todos vários grupos de animais estudados (Esbérard *et al.* 2006; Carvalho, Araújo & Silva 2007; Alves & Vecchi 2009). Embora artrópodes não tenham ainda sido estudados é esperado que também ocorra redução na diversidade artrópodes que servem de alimento para anuros.

Os dados para excrecências nupciais em *R. ornata* sugerem que estas aparecem em todos os dedos quase simultaneamente na maioria dos indivíduos com idade estimada de um ano. Isso pode ser indicativo de que, a partir dessa idade, os indivíduos machos já estejam aptos para reproduzir. Em *R. arenarum* (Bionda *et al.* 2015) e *R. schneideri* (Arantes *et al.*,

2015) indivíduos com 1 ano de idade já eram sexualmente maduros. Indicando que esta interpretação também seja válida para as amostras aqui estudadas. Em *R. rubescens* os indivíduos amadurecem ainda mais precocemente e já podem ser considerados maduros com aproximadamente 200 dias após a metamorfose (Arantes *et al.* 2015). Em espécies de outros gêneros e da mesma família, ESM também ocorre nessa idade, como em *Incilius valliceps* (Blair 1953) e em espécies de diferentes famílias, como *Lithobates catesbeianus* (Howard 1981) *Rana latastei* (Guarino *et al.* 2003) e *Lithobates septentrionalis* (Leclair Jr & Laurin 1996), da família Ranidae, e em *Hoplobatrachus tigerinus* (Gramapurohit, Shambhag & Saidapur 2004), da família Dicroglossidae. Portanto, a maturidade sexual nessa idade pode ser um padrão para a família Bufonidae.

Em *R. schneideri* e *R. rubescens* foram encontrados padrões de longevidade próximos dos encontrados aqui, com 3 e 5 anos respectivamente (Arantes *et al.* 2015), assim como em *R. arenarum* (Bionda *et al.* 2015), e em quatro espécies do gênero *Atelopus* nas regiões entre o Panamá e o Peru, com idade chegando a 6 anos em *A. peruensis* (Lindquist, Redmer & Brantner 2012). Em outras espécies tropicais oriundas de outros continentes, os padrões são similares, como por exemplo, em *Euphlyctis cyanophlyctis* na Índia (Pancharatna, Chandran & Kumbar 2000), *Pelophylax saharicus* no Marrocos (Esteban *et al.* 1999) e *Bohemantis microtympanum* no sul de Madagascar (Guarino, Andreone & Angelini 1998). Em espécies localizadas em regiões com estações mais marcadas, no entanto, as longevidades registradas em geral são maiores, como por exemplo, para *Feirana taihannicus*, no noroeste da China (Zhang *et al.* 2013) e *Rana muscosa* nos Estados Unidos (Matthews & Miaud 2007), com idade podendo atingir 10 anos, e *Rana temporaria*, no norte da Finlândia, com idade chegando a 18 anos (Patrelle *et al.* 2012). É possível que exista um padrão de longevidade associado com o período de atividade dos espécimes, em que indivíduos que tenham maior

período de atividade ao longo do ano vivam menos, e indivíduos com menores períodos de atividade tenham longevidade maior.

O ajuste da curva de crescimento das amostras aqui estudadas ao modelo de crescimento de Von Bertalanffy indica tendência à estabilização do crescimento rostro-cloacal assim que os indivíduos atingem a idade estimada de um ano, o que, por conta do desenvolvimento das excrecências, parece também indicar a maturidade sexual. Esse padrão é semelhante ao descrito para outras espécies com idade similar, como *R. schneideri* e *R. rubescens* (Arantes *et al.* 2015), *R. arenarum* (Bionda *et al.* 2015), *Argenteohyla siemersi* (Cajade, Marangoni & Gangenova 2013), *Dermatonotus muelleri* e *Ceratophrys cranwelli* (Marangoni *et al.* 2009). É possível que essas espécies sigam o modelo de crescimento determinado, caracterizado pela impossibilidade de retomada de crescimento após atingirem a maturidade sexual, como proposto por Sebens (1987), porém com estabilização da curva de crescimento ocorrendo em uma idade além do tempo de vida dos indivíduos. Em espécies com longevidade maior é possível visualizar que existe uma idade em que a curva de crescimento se estabiliza, como por exemplo, em *Pelodytes punctatus*, com longevidade de 8 anos para machos e 10 para fêmeas e com curva de crescimento se estabilizando depois dos 4 anos de idade (Esteban *et al.* 2004), ou como em *Amolops mantzorum*, com longevidade de 7 anos para machos e 9 anos para fêmeas, com curvas de crescimento já chegando próximo à estabilidade com 6 anos (Bo & Lu 2010).

As amostras das diferentes populações de *R. ornata* não apresentaram diferença significativa na média de idade, porém é possível inferir pelo exame dos gráficos que o ritmo de crescimento difere entre as populações das ilhas e do continente (Figura 6A e 6B). Além disso, as populações da Ilha Grande e da Ilha da Marambaia apresentam indivíduos menores no primeiro ano de vida (como indicado pelo desenvolvimento das excrecências nupciais da mão) do que os indivíduos do continente. Esses dados indicam que o ritmo de crescimento

entre a populações insulares e continentais é diferente, ainda que entre a Ilha de Itacuruçá e o continente não haja diferença significativa em relação à ESM. Palkovacs (2003) propõe que, de forma sintética, apenas dois fatores sejam responsáveis pela modificação de tamanho das espécies em ilhas: redução da disponibilidade de recursos, que seria responsável pelo efeito de nanismo, e redução da mortalidade extrínseca, responsável pelo gigantismo em ilhas. Em espécies que apresentam redução do tamanho adulto em ambiente insular, como em *R. ornata* (Montesinos, Silva & Carvalho 2012), a densidade populacional pode ser reduzida como consequência da menor quantidade de recurso disponível, como foi proposto para lagartos do gênero *Anolis* (Andrews 1976). Entretanto, não dispomos ainda de dados sobre o tamanho dessas populações. Outra consequência dessa baixa disponibilidade de recurso seria a taxa de crescimento individual reduzida, como observado por Hasegawa (1994) e aqui (Figura 6C e 6D). Portanto, o menor tamanho em populações insulares de *R. ornata* pode estar relacionado a menor disponibilidade de recursos nas ilhas em relação ao continente. Embora Palkovacs (2003), tenha postulado que espécies com escassez de recursos também tenham tamanho na idade de maturidade sexual reduzido, o que não foi observado aqui, é possível ainda assim que as populações insulares de *R. ornata* apresentem essa maturidade antecipada em relação ao continente, mesmo que em intensidades não detectáveis pela técnica de esqueletocronologia, e que essa redução no crescimento seja mais evidente nas idades subsequentes (Figura 6). Para verificar se as populações insulares colocadas aqui apresentam esse efeito, ainda são necessários mais estudos com precisão da ESM mais acurada, de meses ou até de dias, ou ainda, comparação quantitativa e qualitativa de dieta em indivíduos com a mesma idade de populações diferentes.

Por fim, é possível concluir que *R. ornata* possui padrão de crescimento que segue um modelo onde não se atinge a estabilização da curva de crescimento. Não é, portanto, possível afirmar que a espécie possua um modelo de crescimento determinado ou

indeterminado. Além disso, a espécie possui longevidade próxima a espécies tropicais e a outras do mesmo gênero, com ESM na idade de 1 ano e com excrescências aparecendo quase que simultaneamente em todas as áreas da mão. As populações das ilhas apresentam taxa de crescimento reduzida em relação ao continente.

Agradecimentos

RR e DS são gratos a Ana Nãanco e Sebastià Camarasa pelo auxílio na preparação das amostras para secção. Durante a realização deste estudo RR recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES) e Conselho Nacional para o Desenvolvimento da Ciência e Tecnologia (CNPq), no Programa Ciências Sem Fronteiras.

Referências

- Alberch, P. & Gale, E.A. (1985) A developmental analysis of an evolutionary trend: digital reduction in amphibians. *Evolution*, 8-23.
- Alves, M.A.S. & Vecchi, M.B. (2009) Birds, Ilha Grande, state of Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *Check List*, **5**, 300-313.
- Andrews, R.M. (1976) Growth rate in island and mainland anoline lizards. *Copeia*, 477-482.
- Arantes, Í.D.C., Vasconcellos, M.M., Boas, T.C.V., Veludo, L.B.a. & Colli, G.R. (2015) Sexual Dimorphism, Growth, and Longevity of Two Toad Species (Anura, Bufonidae) in a Neotropical Savanna. *Copeia*, **103**, 329-342.

346 Baldissera Jr, F.A., Caramaschi, U. & Haddad, C.F.B. (2004) Review of the *Bufo crucifer*
 347 species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura,
 348 Bufonidae). *Arquivos do Museu Nacional Rio de Janeiro*, **62**, 27.

349 Belo, W.C., Dias, G. & Dias, M.S. (2002) O fundo marinho da baía da Ilha Grande, RJ: o relevo
 350 submarino e a sedimentação no canal central. *Revista Brasileira de Geofísica*, **20**, 5-
 351 15.

352 Benton, M.J., Csiki, Z., Grigorescu, D., Redelstorff, R., Sander, P.M., Stein, K. & Weishampel,
 353 D.B. (2010) Dinosaurs and the island rule: The dwarfed dinosaurs from Hațeg Island.
 354 *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **293**, 438-454.

355 Bionda, C.d.L., Kost, S., Salas, N.E., Lajmanovich, R.C., Sinsch, U. & Martino, A.L. (2015) Age
 356 structure, growth and longevity in the common toad, *Rhinella arenarum*, from
 357 Argentina. *Acta Herpetologica*, **10**, 55-62.

358 Bittencourt-Silva, G.B. & Silva, H.R.d. (2013) Insular Anurans (Amphibia: Anura) of the coast
 359 of Rio de Janeiro, southeast, Brazil. *Check List*, **9**, 225-234.

360 Bittencourt-Silva, G.B. & Silva, H.R.d. (2014) Effects of fragmentation and sea-level changes
 361 upon frog communities of land-bridge islands off the southeastern coast of Brazil.
 362 *PLoS ONE*, **9**.

363 Blair, W.F. (1953) Growth, dispersal and age at sexual maturity of the Mexican toad (*Bufo*
 364 *valliceps*) Wiegmann. *Copeia*, **1953**, 208-212.

365 Bo, W.B. & Lu, X. (2010) Age and Growth of a Subtropical High-Elevation Torrent Frog,
 366 *Amolops mantzorum*, in Western China. *Journal of Herpetology*, **44**, 172-176.

367 Cajade, R., Marangoni, F. & Gangenova, E. (2013) Age, body size and growth pattern of
 368 *Argenteohyla siemersi pedersenii* (Anura: Hylidae) in northeastern Argentina. *Journal*
 369 *of Natural History*, **47**, 237-251.

370 Carvalho, A.L.G.d., Araújo, A.F.B.d. & Silva, H.R.d. (2007) Lagartos da Marambaia, um
 371 remanescente insular de Restinga e Floresta Atlântica no Estado do Rio de Janeiro,
 372 Brasil. *Biota Neotropica*, **7**, 221-226.

373 Castellano, S. & Giacoma, C. (1998) Morphological Variation of the Green Toad, *Bufo viridis*,
 374 in Italy: A Test of Causation. *Journal of Herpetology*, **32**, 10.

375 Clegg, S.M., Degnan, S.M., Moritz, C., Estoup, A., Kikkawa, J., Owens, I.P. & Edwards, S.
 376 (2002) Microevolution in island forms: the roles of drift and directional selection in
 377 morphological divergence of a passerine bird. *Evolution*, **56**, 2090-2099.

378 Diamond, J. (1969) Avifaunal equilibria and species turnover rates on the channel islands of
 379 California. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **64**, 6.

380 Esbérard, C.E.L., Jordão-Nogueira, T., Luz, J.L., Melo, G., Mangolin, R., Jucá, N., Raíces, D.S.L.,
 381 Enrici, M.C. & Bergallo, H. (2006) Morcegos da Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ,
 382 Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, **8**, 147-153.

383 Esteban, M., García-París, M., Buckley, D. & Castanet, J. (1999) Bone growth and age in *Rana*
 384 *saharica*, a water frog living in a desert environment Bone growth and age in *Rana*
 385 living in a desert environment. *Annales Zoologici Fennici*, **36**, 53-62.

386 Esteban, M., Sánchez-Herráiz, M.J., Barbadillo, L.J. & Castanet, J. (2004) Age structure and
 387 growth in an isolated population of *Pelodytes punctatus* in northern Spain. *Journal of*
 388 *Natural History*, **38**, 2789-2801.

389 Foster, J.B. (1964) Evolution of mammals on Islands. *Nature*, **202**, 2.

390 Frost, D.R. (2016) Amphibian Species of the World: an Online Reference. American Museum
 391 of Natural History, New York, USA.

392 Gilpin, M.E. & Diamond, J.M. (1976) Calculation of immigration and extinction curves from
 393 the species-area-distance relation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,
 394 **73**, 4130-4134.

395 Gramapurohit, N.P., Shanbhag, B.A. & Saidapur, S.K. (2004) Growth, sexual maturation and
 396 body size dimorphism in the indian bullfrog, *Hoplobatrachus tigerinus* (Daud.).
 397 *Herpetologica*, **60**, 5.

398 Guarino, F.M., Andreone, F. & Angelini, F. (1998) Growth and longevity by
 399 skeletochronological analysis in *Mantidactylus microtympanum*, a rain-forest anuran
 400 from Southern Madagascar. *Copeia*, **1998**, 4.

401 Guarino, F.M., Lunardi, S., Carlomagno, M. & Mazzotti, S. (2003) A skeletochronological
 402 study of growth, longevity, and age at sexual maturity in a population of *Rana*
 403 *latastei* (Amphibia, Anura). *Journal of biosciences*, **28**, 775-782.

404 Hasegawa, M. (1994) Insular radiation in life history of the lizard *Eumeces okadae* in the Izu
 405 Islands, Japan. *Copeia*, 732-747.

406 Howard, R.D. (1981) Sexual dimorphism in bullfrogs. *Ecology*, 303-310.

407 Iwasawa, H. & Kobayashi, M. (1974) Effects of testosterone and estradiol on the
 408 development of sexual characters in young *Rana nigromaculata*. *Biology of*
 409 *reproduction*, **11**, 398-405.

410 Izzo, I., Matteo, L.D., Minucci, S., Iela, L., Meglio, M.D. & Rastogi, R.K. (1982) The control of
 411 the frog (*Rana esculenta*) thumb pad. *Experientia*, 2.

412 Kao, Y.-H., Alexander, S.P., Yang, C.V.V. & Yu, Y.-L.J. (1994) Annual Patterns of Testicular
 413 Development and Activity in the Chinese Bullfrog (*Rana rugulosa* Wiegmann).
 414 *Zoological Studies*, **33**, 7.

415 Leclair Jr, R. & Laurin, G. (1996) Growth and body size in populations of mink frogs *Rana*
 416 *septentrionalis* from two latitudes. *Ecography*, **19**, 296-304.

417 Lindquist, E., Redmer, M. & Brantner, E. (2012) Annular bone growth in phalanges of five
 418 Neotropical Harlequin Frogs (Anura: Bufonidae: *Atelopus*). *Phyllomedusa*, **11**, 7.

419 Lomolino, M.V. (1985) Body size of mammals on islands: the island rule reexamined. *The*
 420 *American Naturalist*, **125**, 310-316.

421 Lomolino, M.V. (2005) Body size evolution in insular vertebrates: Generality of the island
 422 rule. *Journal of Biogeography*, **32**, 1683-1699.

423 Lomolino, M.V., Sax, D.F., Palombo, M.R. & Van Der Geer, A.A. (2012) Of mice and
 424 mammoths: evaluations of causal explanations for body size evolution in insular
 425 mammals. *Journal of Biogeography*, **39**, 842-854.

426 Lynch, J.F. & Johnson, N.K. (1974) Turnover and Equilibria in Insular Avifaunas, with Special
 427 Reference to the California Channel Islands. *The Condor*, **76**, 14.

428 Lynch, L.C. & Blackburn, D.G. (1995) Effects of testosterone administration and gonadectomy
 429 on nuptial pad morphology in overwintering male leopard frogs, *Rana pipiens*.
 430 *Amphibia-Reptilia*, **16**, 113-121.

431 MacArthur, R.H. & Wilson, E.O. (1967) *Theory of Island Biogeography*. Princeton University
 432 Press.

433 MacFarland, C.G., Villa, J. & Toro, B. (1974) The Galápagos giant tortoises (*Geochelone*
 434 *elephantopus*) Part I: Status of the surviving populations. *Biological Conservation*, **6**,
 435 118-133.

436 Mageski, M., Ferreira, R.B., Jesus, P.R., Costa, L.C., Roper, J.J. & Ferreira, P.D. (2015) The
 437 island rule in the Brazilian frog *Phyllodytes luteolus* (Anura: Hylidae): incipient
 438 gigantism? *Zoologia*, **32**, 4.

439 Maia-Carneiro, T., Kiefer, M.C., Van Sluys, M. & Rocha, C.F.D.d. (2013) Feeding habits,
 440 microhabitat use, and daily activity period of *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae) from
 441 three Atlantic rainforest remnants in southeastern Brazil. *North-Western Journal of*
 442 *Zoology*, **9**, 8.

443 Marangoni, F., Barrasso, D.A., Cajade, R. & Agostini, G. (2012) Body size , age and growth
 444 pattern of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) of Argentina. *North-*
 445 *Western Journal of Zoology*, **8**, 8.

446 Marangoni, F., Schaefer, E., Cajade, R. & Tejedo, M. (2009) Growth-mark formation and
 447 chronology of two neotropical anuran species. *Journal of Herpetology*, **43**, 546-550.

448 Matthews, K.R. & Miaud, C. (2007) A Skeletochronological Study of the Age Structure,
 449 Growth, and Longevity of the Mountain Yellow-legged Frog, *Rana muscosa*, in the
 450 Sierra Nevada, California. *Copeia*, **2007**, 986-993.

451 Medeiros, C.I., Both, C., Kaefer, I.L. & Cechin, S.Z. (2016) Reproductive phenology of the
 452 American Bullfrog in subtropical Brazil: photoperiod as a main determinant of
 453 seasonal activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 1-13.

454 Meiri, S. (2007) Size evolution in island lizards. *Global Ecology and Biogeography*, **16**, 702-
 455 708.

456 Meiri, S., Cooper, N. & Purvis, A. (2008) The island rule: made to be broken? *Proceedings of*
 457 *the Royal Society*, 7.

458 Meiri, S., Dayan, T. & Simberloff, D. (2004) Body Size of Insular Carnivores: Little Support for
 459 the Island Rule. *The American Naturalist*, **163**, 10.

460 Mendelson III, J.R., Savage, J.M., Griffith, E., Ross, H., Kubicki, B. & Gagliardo, R. (2008)
 461 Spectacular new gliding species of *Ecnomiohyla* (Anura: Hylidae) from central
 462 Panama. *Journal of Herpetology*, **42**, 750-759.

463 Montesinos, R., Silva, H.R.d. & Carvalho, A.L.G.d. (2012) The 'Island Rule' Acting on Anuran
 464 Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. *Biotropica*, **44**,
 465 506-511.

466 Ogle, D.H. (2016) FSA: Fisheries Stock Analysis.

467 Palkovacs, E.P. (2003) Explaining adaptive shifts in body size on islands: a life history
 468 approach. *Oikos*, **103**, 37-44.

469 Palmer, M. (2002) Testing the 'island rule' for a tenebrionid beetle (Coleoptera,
 470 Tenebrionidae). *Acta Oecologica*, 4.

471 Pancharatna, K., Chandran, S. & Kumbar, S. (2000) Phalangeal growth marks related to testis
 472 development in the frog *Rana cyanophlyctis*. *Amphibia-Reptilia*, **21**, 8.

473 Patrelle, C., Hjernquist, M.B., Laurila, A., Söderman, F. & Merilä, J. (2012) Sex differences in
 474 age structure, growth rate and body size of common frogs *Rana temporaria* in the
 475 subarctic. *Polar Biology*, **35**, 1505.

476 Pereyra, M.O., Candiotti, M.F.V., Faivovich, J. & Baldo, D. (2015) Egg clutch structure of
 477 *Rhinella rumbolli* (Anura : Bufonidae), a toad from the Yungas of Argentina, with a
 478 review of the reproductive diversity in *Rhinella*. **51**, 161-170.

479 Pombal Jr, J.P. & Haddad, C.F.B. (2005) Estratégias e modos reprodutivos de anuros
 480 (Amphibia) em uma poça permanente da Serra de Paranapiacaba, Sudeste do Brasil.
 481 *Papéis Avulsos de Zoologia*, **45**, 13.

482 R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. (ed. R.F.f.S.
 483 Computing). Vienna, Austria.

484 Raia, P. & Meiri, S. (2006) The island rule in large mammals: paleontology meets ecology.
 485 *Evolution*, **60**, 1731-1742.

486 Sebens, K.P. (1987) The ecology of indeterminate growth in animals. *Annual Review of*
 487 *Ecology and Systematics*, 371-407.

488 Silva, H.R.d., Carvalho, A.L.G.d. & Bittencourt-Silva, G.B. (2008) Frogs of Marambaia: a
 489 naturally isolated Restinga and Atlantic Forest remnant of southeastern Brazil. *Biota*
 490 *Neotropica*, **8**, 0-0.

491 Singhas, C.A. & Dent, J.N. (1975) Hormonal control of the tail fin and of the nuptial pads in
 492 the male red-spotted newt. *General and comparative endocrinology*, **26**, 11.

493 Sinsch, U. (2015) Review: Skeletochronological assessment of demographic life-history traits
 494 in amphibians. *Herpetological Journal*, **25**, 5-13.

495 Sinsch, U., Oromi, N. & Sanuy, D. (2007) Growth marks in natterjack toad (*Bufo calamita*)
 496 bones: histological correlates of hibernation and aestivation periods. *The*
 497 *Herpetological Journal*, **17**, 129-137.

498 Smirina, E.M. (1994) Age determination and longevity in Amphibians. *Gerontology*, pp. 133-
 499 146.

500 Suguio, K. (2010) *Geologia do Quaternário e mudanças ambientais*. Oficina de Textos, São
 501 Paulo.

502 Van Valen, L. (1973) Pattern and the balance of nature. *Evolutionary Theory*, **1**, 31-49.

503 von Bertalanffy, L. (1938) A quantitative theory of organic growth (inquires on growth laws.
 504 II). *Human Biology*, **10**, 181-213.

505 Wickham, H. (2009) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.

506 Wu, Z., Li, Y. & Murray, B.R. (2006) Insular shifts in body size of rice frogs in the Zhoushan
 507 Archipelago, China. *Journal of Animal Ecology*, **75**, 1071-1080.

508 Zhang, L., Lu, Y., Lu, X. & Chen, X. (2013) Age and growth examined by skeletochronology for
509 the stream-dwelling frog *Feirana taihannicus* in central China. *Herpetological Journal*,
510 **23**, 89-92.

Tabela

Tabela 1. Quantidade de indivíduos em cada idade que apresentaram excrescências nupciais em áreas do dedo e da palma da mão. IMcT = Tubérculo Metacarpal Interno.

	IMcT	Dedo II	Dedo III	Dedo IV	<i>n</i>
idade 0	1	1	0	0	8
	0.8%	0.8%	—	—	
idade 1	52	53	52	52	54
	96.3%	98.1%	96.3%	96.3%	
idade 2	42	42	40	39	42
	100%	100%	95.2%	92.8%	
idade 3	11	11	11	10	11
	100%	100%	100%	90,9%	
idade 4	1	1	1	1	1
	100%	100%	100%	100%	

Figuras

Figura 1. Populações de *R. ornata* na Costa Verde do Rio de Janeiro.

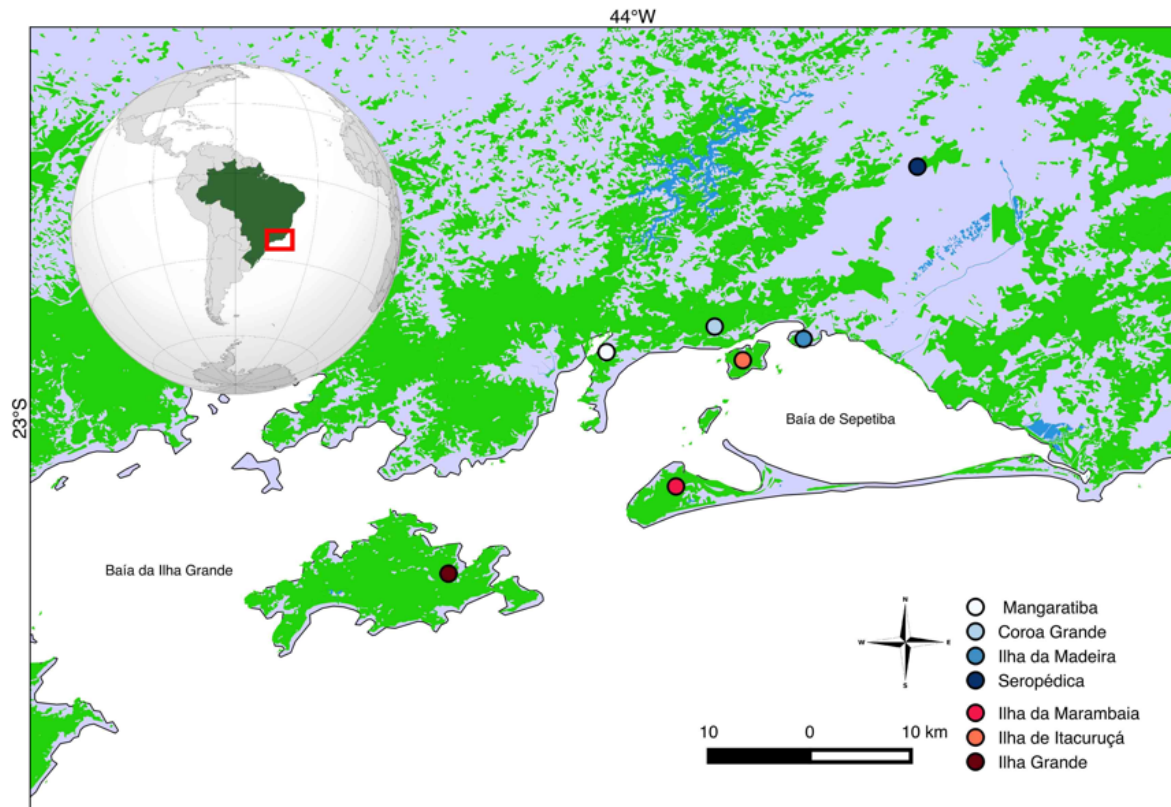


Figura 2. Estágios de desenvolvimento das excrescências nupciais em *R. ornata*: Recém-metamorfoseado em vista ventral (a) e dorsal (d), juvenil em vista ventral (b) e dorsal (e) e adulto em vista ventral (c) e dorsal (f) (Escala: 1 cm).

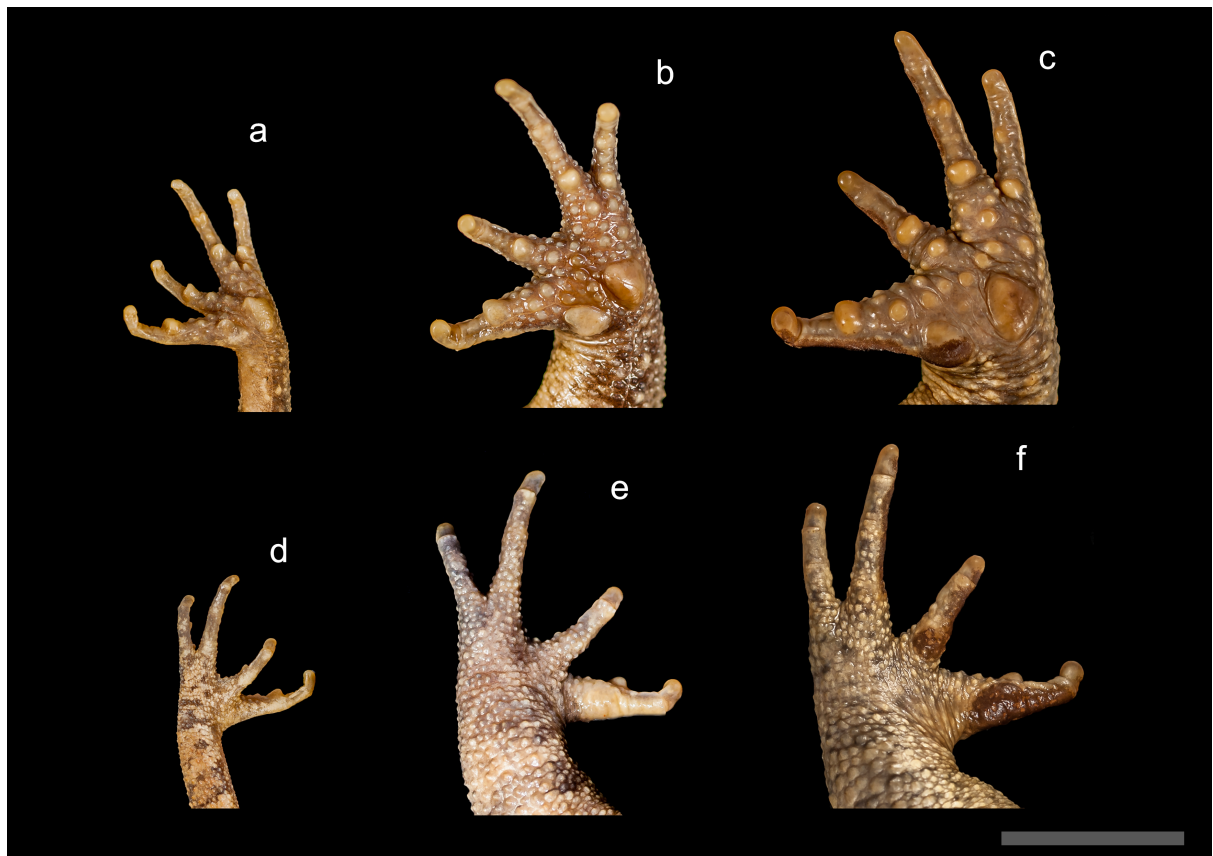


Figura 3. Número de indivíduos de *R. ornata* em cada classe de idade estimada por esqueletocronologia: (A) Todas as localidades juntas, (B) Localidades no continente e Ilhas separadas. A idade 0 significa que além da linha de metamorfose, não foi observada nenhuma outra linha na secção.

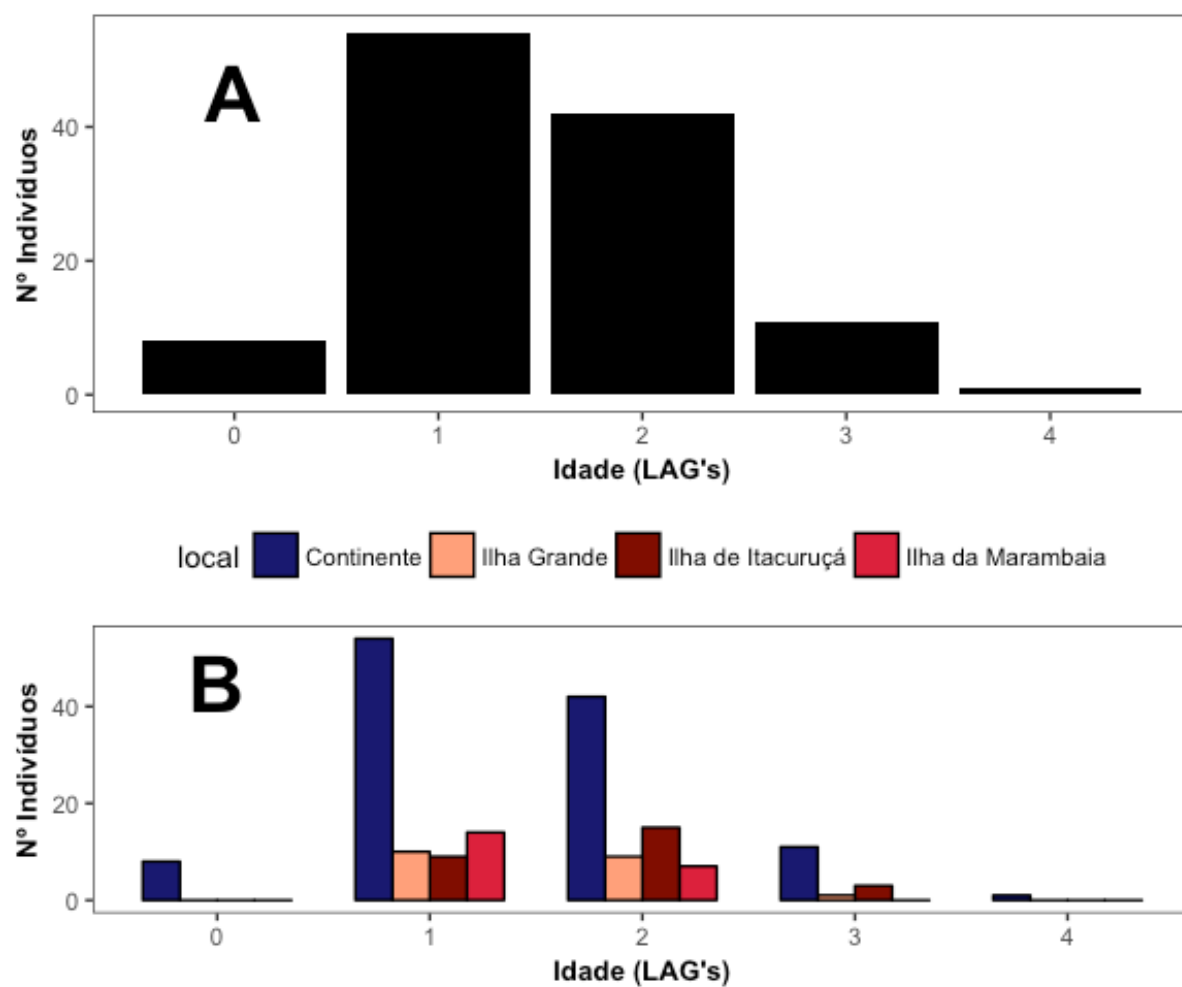


Figura 4. Linhas de Interrupção de Crescimento (LAG's) em *R. ornata*. (MC: Cavity Medular; escala: 100µm)

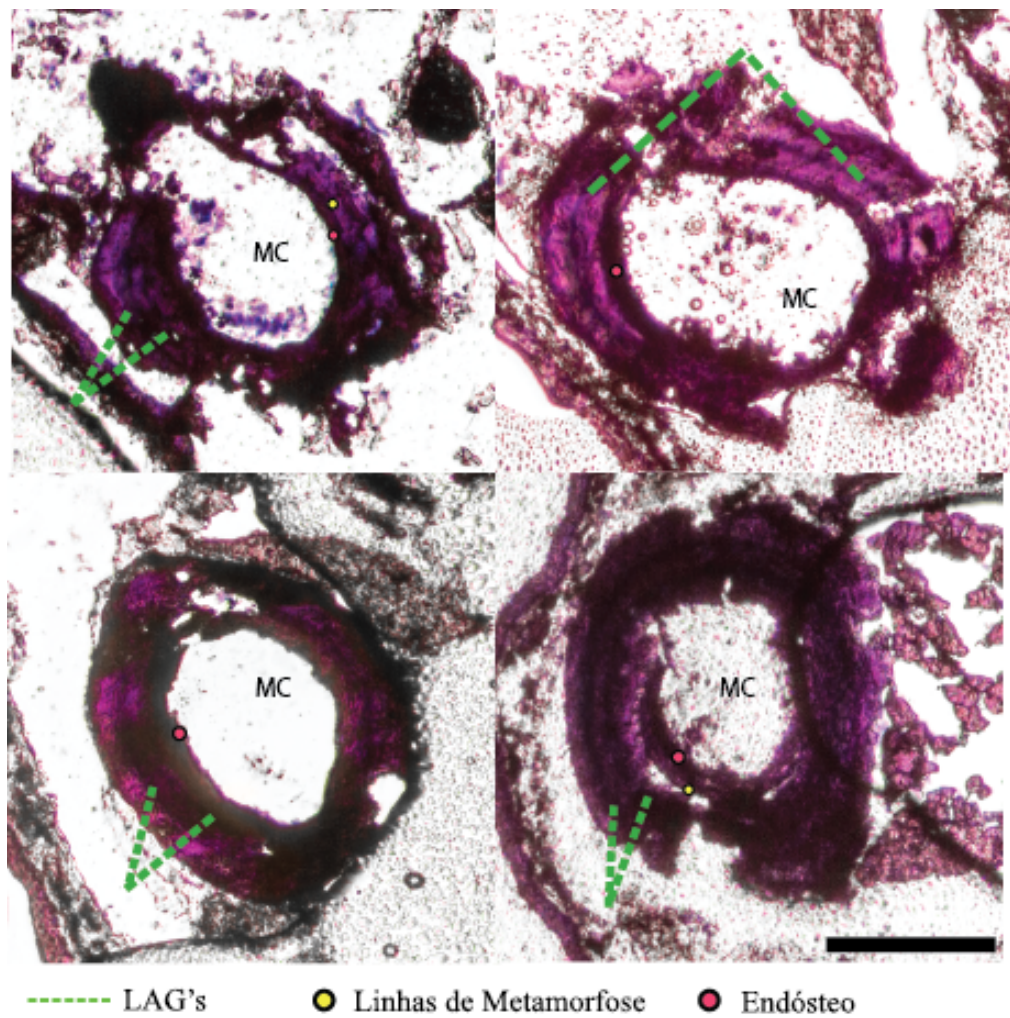


Figura 5. Modelo de von Bertalanffy para *R. ornata* ($R^2= 0.976$) demonstrando o modelo de crescimento utilizando estimativas de idade (LAG's) e tamanho dos indivíduos (CRC – Comprimento Rostro-Cloacal).

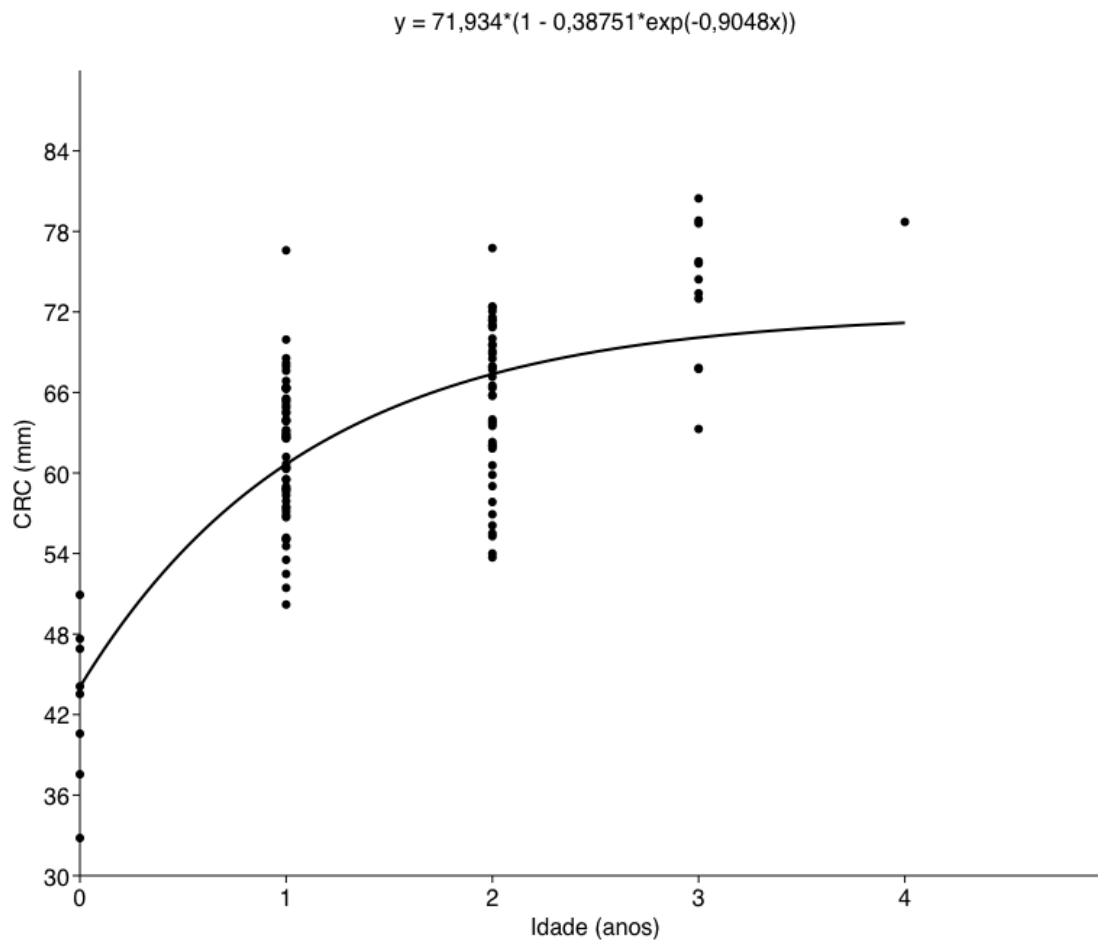
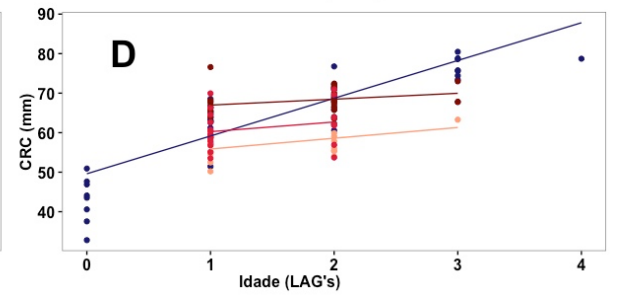
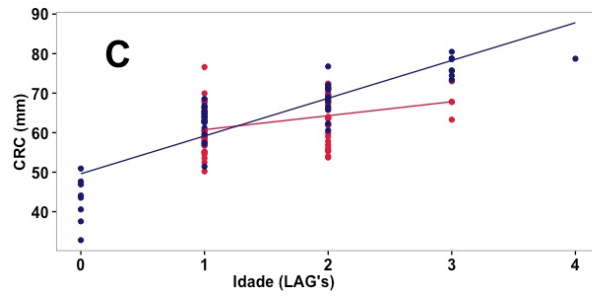
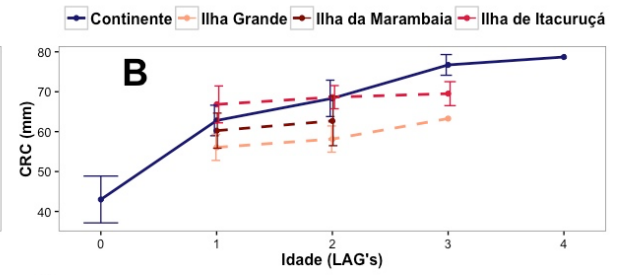
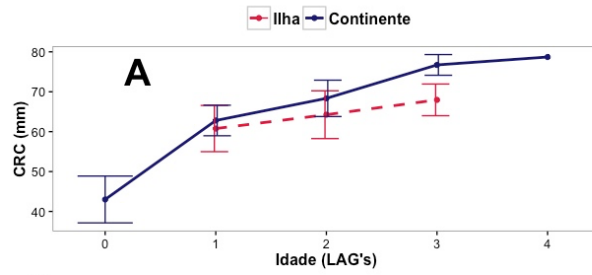


Figure 6. Projeção da linha de crescimento em *R. ornata* para (A) cada ilha individualmente em relação a todas as áreas do continente, e (B) todas as ilhas em relação a todas as áreas do continente; Modelos de regressão entre (C) todas as ilhas e o continente, e (D) cada ilha separadamente em relação ao continente. (CRC – Comprimento Rostro-Cloacal).



559

560

Capítulo III

Frog size on continental islands of the coast of Rio de Janeiro and the generality of the
Island Rule

Raoni Rebouças ^{1,2}, Hélio Ricardo da Silva ², Mirco Solé ³

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Biologia Animal, Universidade
Federal do Espírito Santo. Avenida Fernando Ferrari, 514, Vitória – ES, Brazil.

² Laboratório de Herpetologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Caixa
Postal: 74524, CEP: 23897-970, Seropédica – RJ, Brazil.

³ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz. Rodovia
Jorge Amado, km 16 – Salobrinho, CEP: 45662-900, Ilhéus – BA, Brazil.

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Esse trabalho não possui financiamento.

26 Resumo

27

28 A Regra de ilhas postula que espécies com indivíduos de grande porte tendem ao nanismo
29 e as com indivíduos de pequeno porte tendem ao gigantismo em ilhas. Esse trabalho foi
30 planejado com o intuito de investigar populações de quatro espécies de anfíbios com
31 histórias naturais diferentes que habitam tanto ilhas costeiras como o continente. A
32 investigação focou em amostras de *Boana albomarginata*, *Scinax trapicheiroi*, *Thoropa*
33 *miliaris* e *Adenomera marmorata* de ilhas do litoral sul do Rio de Janeiro. Foi verificada
34 a correlação entre o tamanho dos indivíduos e características das ilhas, que foram
35 superfície da ilha, quantidade de espécies na ilha, tempo de isolamento e distância para o
36 continente. Apenas *T. miliaris* não apresentou diferença de tamanho entre as populações
37 nem correlação significativa com parâmetros das ilhas. *A. marmorata* apresentou
38 nanismo nas populações insulares e correlação com área disponível na ilha, tempo de
39 isolamento da população e distância da ilha para o continente, *S. trapicheiroi* apresentou
40 nanismo com correlação com três dos quatro parâmetros insulares, assim como *B.*
41 *albomarginata*, porém esta última apresentou gigantismo em ilhas. É possível afirmar
42 que em anfíbios os padrões de modificação de tamanho em virtude da insularidade são
43 diferentes dos conhecidos para outros grupos. As diferenças alométricas observadas aqui
44 em ilhas podem ser resultado de pressão seletiva diferenciada do continente.
45 Provavelmente as modificações de tamanho são populacional-específicas e dependem de
46 características ecológicas específicas.

47

48 Palavras-chave: Gigantismo, Nanismo, Amphibia, Anura, Ilhas Barreira, Costa Verde.

49

50

51 Introdução

52

53 Os efeitos no tamanho dos indivíduos em virtude do isolamento em ilhas têm
54 atraído a atenção de muitos pesquisadores ao longo do tempo (1-5). As primeiras
55 observações que descrevem diferenças nos tamanhos dos indivíduos de populações
56 insulares foram feitas por Foster (6) para mamíferos, e posteriormente, Van Valen (7)
57 apresentou uma generalização do fenômeno como regra, conhecida como “Regra de
58 Ilhas”. Em linhas gerais, essa regra descreve uma tendência gradual das populações
59 insulares ao gigantismo, quando as formas colonizadoras no continente são formadas por
60 indivíduos relativamente pequenos, e ao nanismo quando os indivíduos no continente são
61 relativamente grandes. Muito ainda se discute sobre as causas dessa variação de tamanho
62 (2, 3, 8), e embora haja muitos estudos documentando a regra de ilhas em populações
63 de diversos grupos (e. g. 9, 10, 11), poucos foram realizados com foco em populações de
64 anfíbios anuros.

65 A ordem Anura compreende atualmente mais de 6600 espécies descritas em 56
66 famílias (12) e é o grupo de vertebrados terrestres mais diverso do planeta. Em ilhas, os
67 anuros são particularmente interessantes por: (i) serem em sua maioria ineficientes
68 dispersores através da barreira representada pela água salgada, e conseqüentemente
69 estarem isolados e sujeitos às condições da ilha; (ii) serem ectotérmicos, demonstrando
70 assim uma dinâmica energética, comportamental e de uso de habitat diferente de
71 mamíferos, que são os mais estudados nesse sentido, (iii) possuírem modos reprodutivos
72 de uso de habitat extremamente diversificado (13), respondendo das mais variadas formas
73 às condições ambientais locais (14-16), e (iv) relativa facilidade de amostragem por não
74 ser necessária a utilização de equipamentos nem métodos sofisticados para obtenção dos
75 espécimes. Em estudos anteriores, com o objetivo de verificar a alteração de tamanho das

populações de anfíbios insulares, as espécies observadas eram bromelígenas (17), de regiões alagadas (18) ou generalistas (19, 20), porém em nenhum deles os aspectos de história natural foram explorados como fator explicativo das causas de alteração de tamanho, como proposto por Palkovacs (21) e Lomolino et al. (8). Portanto, o estudo com anuros em ilhas de forma comparativa, ainda que pouco explorado, representa uma oportunidade de investigar os efeitos de isolamento nas populações insulares de um grupo com características de história de vida diferenciadas dos grupos mais estudados.

A costa do Brasil possui centenas de ilhas-barreira, que são fragmentos formados pela elevação do nível marinho (22). A maioria das ilhas do litoral brasileiro está inserida dentro do domínio da Mata Atlântica, e possuem comunidades de anfíbios anuros muito diversas (23, 24), inclusive com registro de espécies endêmicas (23, 25, 26). O litoral sul do Rio de Janeiro, conhecido localmente como Costa Verde, é formado pelas Baías da Ilha Grande e de Sepetiba, que juntas possuem centenas de ilhas-barreira de vários tamanhos, e com uma grande diversidade de habitats e de espécies de anuros (23, 24, 27). Aproveitando deste cenário, esse trabalho teve como objetivos: (i) verificar como populações de quatro espécies são caracterizadas quanto ao tamanho dos indivíduos; (ii) comparar o tamanho dos indivíduos das ilhas com o de indivíduos do continente; (iii) investigar a correlação entre tamanho dos indivíduos e variáveis descritoras as ilhas; e (iv) comparar as variações de tamanhos observadas para cada espécie aqui investigada com resultados encontrados em outros estudos, afim de investigar a existência de um padrão geral.

Material e Métodos

100 *Local de estudo.* Os espécimes utilizados para esse estudo foram coletados ao longo

101 da Costa Verde do Rio de Janeiro, entre os municípios de Rio de Janeiro e Paraty. As
102 ilhas amostradas são adjacentes a essas áreas continentais, nas baías da Ilha Grande e de
103 Sepetiba, e são elas: Ilha de Itacuruçá, Ilha da Jaguanum e Ilha da Marambaia, na Baía de
104 Sepetiba, e Ilha Grande, Ilha da Gipóia e Ilha de Itanhangá, na Baía da Ilha Grande (Figura
105 1). Essas ilhas foram escolhidas por possuírem características de relevo, área e de
106 composição de espécies diferentes (23). Dados sobre a área e número de espécies de
107 anfíbios por localidade foram retirados de Bittencourt-Silva e Silva (23) e de cartas
108 náuticas disponibilizadas pela Marinha do Brasil (28). Para fins de análise, as áreas do
109 continente foram todas consideradas como uma única localidade, assumindo-se para tal
110 que, entre as localidades estudadas, algum nível de fluxo gênico deva ter ocorrido desde
111 o início do processo de isolamento, já que não existem barreiras visíveis para o fluxo
112 gênico entre populações do continente, como relatado para ratos do gênero *Nectomys*
113 (29).

114 As ilhas onde as amostragens ocorreram são caracterizadas como ilhas barreiras
115 (ou continentais), formadas por processo de inundação da plataforma continental em
116 decorrência da elevação do nível médio marinho (30). No caso da costa brasileira, essas
117 ilhas resultam de processos de variação do nível médio marinho associados a glaciação e
118 ao fim do período glacial (31). A evolução paleogeográfica do litoral e consequente
119 formação das ilhas pode ser dividida em cinco fases: (i) No fim do último máximo glacial
120 (aproximadamente 18 mil anos antes do presente), o nível médio marinho estava a mais
121 de 120 m abaixo do atual (32). Como resultado, a plataforma continental esteve exposta
122 e muito provavelmente recoberta por vegetação de Mata Atlântica (33), assim,
123 populações de diversos organismos terrestres devem ter ocupado toda essa extensão de
124 terra exposta. (ii) Com o fim do período glacial e a consequente elevação do nível

125 marinho, as baixadas litorâneas foram inundadas (transgressão marinha) e apenas o pico
126 de alguns morros mais altos continuaram expostos, formando as ilhas que observamos
127 hoje (32). Esse evento de transgressão inundou desde áreas hoje abaixo de 120 metros até
128 aproximadamente 3 metros acima do nível médio marinho atual entre 18 mil e 4 mil anos
129 atrás (32). Esse processo de inundação deve ter primeiramente isolado a Ilha Grande (há
130 10 mil anos), por possuir canais mais profundos ao seu redor, depois a Ilha da Marambaia,
131 há 8 mil anos, e finalmente as ilhas de Itanhangá, Gipóia, e Itacuruçá há 7 mil anos. (iii)
132 Em um terceiro momento, aproximadamente entre 4,5 e 3,5 mil anos atrás, uma nova
133 regressão ocorreu reduzindo o nível médio marinho de 3 metros acima do atual até
134 aproximadamente 10 metros abaixo do atual, conectando novamente a ilha de Itacuruçá
135 e a Ilha da Marambaia ao continente. A Ilha de Itanhangá voltou a se conectar às três ilhas
136 próximas (Ilha de Paquetá, Ilha do Pinto e Ilha das Palmeiras), porém ainda com canal de
137 mais de 10 metros de profundidade mantendo o isolamento entre essas ilhas e o
138 continente, assim como a Ilha de Jaguanum, que voltou a se conectar às ilhas ao redor,
139 porém permaneceu isolada da Ilha da Marambaia e da Ilha de Itacuruçá por dois canais,
140 de 10 metros e 22 metros respectivamente (28). (iv) Aproximadamente entre 3,5 e 3 mil
141 anos atrás, estas conexões foram perdidas devido a uma nova transgressão marinha de 10
142 metros abaixo até 3 metros acima do atual, isolando novamente a Ilha de Jaguanum e de
143 Itanhangá das ilhas vizinhas e a Ilha da Marambaia e Itacuruçá do continente. (v) Após
144 essa última elevação há 3 mil anos atrás, a redução do nível marinho até o atual, apesar
145 de uma pequena redução seguida de transgressão há aproximadamente 2 mil anos atrás,
146 mantém a Ilha de Itacuruçá isolada, assim como a Ilha de Itanhangá e Jaguanum das
147 outras ilhas mais próximas, porém mantém a Ilha da Marambaia parcialmente conectada
148 por uma faixa de areia de 100 metros de largura em seu ponto mais estreito (27), não
149 sendo suficiente para manter a conectividade das populações de anuros com o continente,

por não apresentar locais propícios para reprodução das espécies (24). As ilhas Grande e Gipóia possuem canais profundos entre elas e o continente, os quais provavelmente mantiveram as duas ilhas isoladas desde o início do processo de formação das baías (Figura 2).

Espécies avaliadas. Foram utilizadas amostras de quatro espécies para as análises morfométricas: *Thoropa miliaris* (Spix, 1824), família Cycloramphidae, espécie típica de rochas úmidas em ambientes de água corrente, com ovos poucos numerosos em ambiente terrestre (34) e com pronunciada proteção territorial (35); *Adenomera marmorata* Steindachner 1867, família Leptodactylidae, com reprodução e alimentação restritas a serapilheira (36, 37); *Boana albomarginata* (Spix, 1824), família Hylidae, que se reproduz em ambientes de poças de áreas abertas ou de borda de floresta (38) com comportamento territorial agressivo (39); e *Scinax trapicheiroi* (A. Lutz and B. Lutz, 1954), família Hylidae, típica de ambientes com água corrente, usando para reprodução poças formadas nas margens dos riachos (40). Essas espécies foram escolhidas por possuírem habitats e história de vida diferentes, além de serem abundantes em pelo menos três das ilhas da área de estudo (23) e em toda área continental adjacente. Foram utilizados indivíduos depositados na Coleção do Laboratório de Herpetologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e da Coleção de Herpetologia do Museu Nacional do Rio de Janeiro. Além disso, espécimes adicionais foram coletados manualmente durante período noturno e sacrificados sob anestesia em Tricaína Metanosulfonada (MS 222), fixados em Formol 4%, conservados em Etanol 70%, e depositados na Coleção do Laboratório de Herpetologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Medidas. Foram tomadas 13 medidas de todos os espécimes: comprimento rostro-cloacal (SVL), comprimento da cabeça (HL), largura da cabeça (HW), distância inter-nasal (IND), distância inter-orbital (IOD), distância olho-nasal (END), diâmetro do olho

(ED), diâmetro do tímpano (TD), comprimento do fêmur (FL), comprimento da perna (LL), comprimento do tarso (TL) e comprimento do pé (FTL). Para eliminar o possível viés de tamanhos de espécimes imaturos na amostra, foram coletados apenas indivíduos comprovadamente adultos. Além de direcionar a coleta de indivíduos em atividade de vocalização, foram coletados espécimes com caracteres sexuais secundários espécie-específicos: em *T. miliaris* machos foram identificados através da presença de espinhos nupciais (41); em *S. trapicheiroi* através da presença de almofadas nupciais (42); em *B. albomarginata* através da presença de prepólex (43); e em *A. marmorata* os machos foram identificados através de modificação de tecido rostral. No último caso, foram considerados como amostra indivíduos de ambos os sexos, já que não apresentam dimorfismo sexual de tamanho. Para evitar ocorrência de fêmeas jovens, espécimes com tamanho muito inferior (*outliers*) foram excluídos da. Todas as medidas foram feitas com paquímetro digital de precisão 0.01mm.

Análise estatística. A normalidade foi testada através do teste de Anderson-Darling em caso de teste multivariado, e através do teste de Shapiro-Wilk, em caso de teste univariado, e os dados foram \log_{10} -transformados quando premissas de normalidade não foram atingidas. Para avaliar se existe mudança de tamanho em cada ilha em relação ao continente, foi feito um teste *t* de *Student* entre Comprimento Rostro-Cloacal (SVL) de cada ilha e do continente. A Análise de Componentes Principais (PCA) foi executada primeiramente como análise exploratória para verificar sobreposições entre os conjuntos de variáveis por local. Após isso, para verificar se existe diferença significativa entre as amostras de ilha e do continente, foi feita uma ANOVA de um fator utilizando o primeiro componente gerado pela PCA, quando a porcentagem de variabilidade do primeiro componente foi alta, e um teste T^2 de Hotelling entre cada ilha e o continente com os componentes da PCA que juntos tenham porcentagem de variância alta.

Para avaliar qual ou quais fatores são responsáveis pela modificação de tamanho nas ilhas, foi feita um teste de correlação de Pearson entre medidas de comprimento rostró-cloacal de espécimes insulares e fatores intrínsecos das ilhas, que foram: número de espécies de anuros da ilha, de acordo com Bittencourt-Silva e Silva (23); menor distância entre ilha e continente, obtida através do software Google© Earth© (44); tempo de isolamento da ilha, estimado de acordo com o proposto por Suguio (32), Suguio et al. (31), Bittencourt-Silva e Silva (27) e Montesinos et al. (19) (Figura 2), e superfície da ilha, calculada como uma aproximação do cálculo para área cônica através da seguinte fórmula:

$$S_{island} = \pi R(g + R)$$

Onde S_{ilha} = Superfície da Ilha; R = Raio da base, considerando a área plana da ilha como base circular; e g = raio do setor circular, ou distância entre perímetro da base à parte mais alta da ilha. A superfície é entendida como uma medida substituta para a quantidade de habitat potencialmente disponível, já que em áreas maiores também é maior a probabilidade de haver mais habitat para uma determinada espécie (8, 45). Todas as análises foram feitas em plataforma R 3.3.0 (46) com intervalo de confiança de 95%.

Resultados

Foram tomadas medidas de 700 indivíduos nas seis ilhas investigadas e nos 37 pontos do continente assim distribuídos: (i) *T. miliaris* 26 indivíduos da Ilha Grande, 32 da Ilha da Marambaia, 19 da Ilha de Itacuruçá e 34 indivíduos de locais no continente; (ii) *A. marmorata* 28 indivíduos da Ilha Grande, 25 da Ilha da Marambaia, 19 da Ilha de

225 Itacuruçá, 14 da ilha de Jaguanum e 99 indivíduos de áreas do continente; (iii) *B.*
226 *albomarginata* 33 indivíduos da Ilha da Marambaia, 34 da Ilha de Itacuruçá, 14 da Ilha
227 de Itanhangá, 12 da Ilha da Gipóia e 108 de áreas no continente; (iv) *S. trapicheiroi* 43
228 indivíduos da Ilha da Marambaia, 15 da Ilha de Itacuruçá, 35 da Ilha Grande e 110
229 indivíduos de áreas do continente.

230 O teste *t* de *Student* revelou que não existe diferença significativa no comprimento
231 rostro-cloacal (SVL) para indivíduos de *T. miliaris* entre o continente e Ilha da
232 Marambaia ($t=-0.5465$, $p=0.587$), Ilha de Itacuruçá ($t=-1.611$, $p=0.114$) e Ilha Grande ($t=-$
233 1.6454 , $p=0.105$). Para *A. marmorata* houve diferença significativa entre continente e a
234 Ilha da Marambaia ($t=-3.6152$, $p=0.001$) e Ilha de Itacuruçá ($t=-2.6024$, $p=0.015$), porém
235 não houve diferença significativa entre continente e Ilha de Jaguanum ($t=-1.7426$,
236 $p=0.102$) e Ilha Grande ($t=-0.2627$, $p=0.794$). Em *B. albomarginata* não houve diferença
237 significativa entre os indivíduos do continente e da Ilha de Itacuruçá ($t=1.6061$,
238 $p=0.1117$), porém houve diferença significativa entre continente e Ilha da Marambaia ($t=-$
239 2.2477 , $p=0.026$), Ilha da Gipóia ($t=11.241$, $p<0.0001$) e Ilha de Itanhangá ($t=8.3315$,
240 $p<0.0001$). Em *S. trapicheiroi* não houve diferença significativa entre espécimes do
241 continente e da Ilha da Marambaia ($t=-1.7591$, $p=0.081$) tampouco da Ilha de Itacuruçá
242 ($t=1.1553$, $p=0.259$), porém houve diferença significativa entre os indivíduos do
243 continente e da Ilha Grande ($t=-5.6295$, $p<0.0001$) (Figura 3 e 4).

244 A Análise de Componentes Principais revelou que para *T. miliaris* a porcentagem
245 de variação do primeiro componente foi de quase 80%, enquanto que para atingir níveis
246 próximos de variação em *Adenomera marmorata* foi necessário considerar os quatro
247 primeiros componentes (79.19%), assim como em *Scinax trapicheiroi* (79.11%), e em
248 *Boana albomarginata* foi necessário considerar a variação acumulada dos três primeiros
249 componentes (75.71%) (Apêndice I). Em *T. miliaris* a sobreposição entre os locais é mais

pronunciada, com a Ilha de Itacuruçá sendo a que possui maior diferença em relação as demais, enquanto que em *B. albomarginata* há a menor sobreposição entre as populações das ilhas e do continente (Figura 5).

A ANOVA revelou que não existe diferença significativa entre locais para *T. miliaris* considerando os escores do primeiro componente ($F=1.101$, $p=0.352$). O teste T^2 de Hotelling feito a partir dos quatro primeiros componentes gerados pela PCA revelou que para *A. marmorata* existe diferença entre indivíduos do continente e da Ilha da Marambaia ($T^2=7.5196$, $p=0.0001$) e da Ilha de Itacuruçá ($T^2=3.6794$, $p=0.014$) porém não demonstrou diferença significativa entre indivíduos do continente e da Ilha Grande ($T^2=1.9236$, $p=0.129$), tampouco para a Ilha de Jaguanum ($T^2=0.7722$, $p=0.512$). Em *B. albomarginata* houve diferença significativa entre indivíduos do continente e da Ilha da Marambaia ($T^2=28.878$, $p<0.0001$), da Ilha de Itacuruçá ($T^2=24.463$, $p<0.0001$), da Ilha de Itanhangá ($T^2=26.797$, $p<0.0001$) e da Ilha da Gipóia ($T^2=26.117$, $p<0.0001$). Em *S. trapicheiroi* houve diferença significativa entre continente e Ilha da Marambaia ($T^2=12.724$, $p<0.0001$), Ilha de Itacuruçá ($T^2=20.831$, $p<0.0001$) e Ilha Grande ($T^2=2.7875$, $p=0.042$).

Através do teste de correlação de Pearson foi possível avaliar que em *T. miliaris* não existe correlação significativa entre nenhum dos fatores e o tamanho dos indivíduos nas ilhas, no entanto em *A. marmorata* houve correlação positiva significativa entre o tamanho dos indivíduos e superfície das ilhas e negativa entre tamanho e distância das ilhas para o continente, em *S. trapicheiroi* houve correlação negativa significativa entre tamanho dos indivíduos e superfície, número de espécies de anuros na ilha e tempo de isolamento, e em *B. albomarginata* houve correlação negativa significativa entre tamanho dos indivíduos e superfície da ilha, número de espécies de anuros na ilha e distância da ilha para o continente (Tabela 1).

Discussão

Os resultados indicam que o tamanho dos indivíduos das populações das diferentes espécies investigadas é diferente entre ilhas e entre as ilhas e o continente apenas para três das quatro espécies investigadas. Ainda assim, entre espécies que variaram quanto ao tamanho, a diferença entre indivíduos das populações insulares e continentais variou entre as ilhas, o que sugere que os padrões observados aqui sejam populacional-específicos. Aqui ficou claro que, de modo semelhante ao descrito para *Rhinella ornata* (19), *S. trapicheiroi* e *A. marmorata* também apresentam populações insulares com indivíduos menores, enquanto, semelhante ao observado para *Phyllodytes luteolus* (17) os indivíduos das populações insulares de *B. albomarginata* são maiores do que os das populações continentais. Por outro lado, em *Thoropa miliaris*, as populações insulares são de tamanho semelhante ao das populações continentais.

Meiri et al. (3), analisando o tamanho de mamíferos em ilhas e considerando a relação filogenética entre esses grupos para comparação ilha/continente, não encontraram suporte para as predições da regra de ilhas, demonstrando que os padrões observados por Foster (6) provavelmente são clado-específicas, e não tamanho-específicas. Ainda que em alguns mamíferos seja possível a verificação de nanismo ou gigantismo em populações insulares em relação às espécies próximas filogeneticamente no continente, (1, 2, 6), em outros grupos como tartarugas (47), aves e lagartos (48) as alterações são diferenciadas, com indivíduos de espécies de grande porte apresentando gigantismo em ilhas, de pequeno porte apresentando nanismo e ainda espécies que não apresentam modificação de tamanho.

As modificações observadas aqui, somadas às já descritas para outros anfíbios anuros (17-20) indicam que o padrão descrito para a regra de ilhas não se aplica para o grupo dos anfíbios da forma como previsto para mamíferos (1, 2, 6). *B. albomarginata*, com pouco mais de 46 mm de comprimento rostro-cloacal (SVL) nas populações do continente, é significativamente maior em populações de duas das quatro ilhas amostradas, *T. miliaris*, com aproximadamente 57 mm de SVL não possui efeito de gigantismo ou de nanismo significativo, e as duas espécies menores, *S. trapicheiroi* e *A. marmorata*, com aproximadamente 20 e 26 mm respectivamente, apresentam efeito de nanismo em uma de três ilhas e em duas de quatro ilhas, respectivamente (Figura 3). Ainda, Montesinos et al. (19) demonstraram que *Rhinella ornata*, com SVL aproximadamente 65 mm em continente, apresenta efeito de nanismo em duas das três ilhas estudadas, enquanto Mageski et al. (17) demonstraram gigantismo em *Phyllodytes luteolus*, que possui aproximadamente 21 mm de SVL em continente, e Wu et al. (18) demonstraram que *Fejervarya limnocharis*, que possui peso de aproximadamente 5 g em continente, apresenta tanto nanismo quanto gigantismo em ilhas.

Embora Lomolino (1, 2) tenha proposto que de uma forma geral as espécies com indivíduos maiores tendam ao nanismo e que espécies com indivíduos menores tendam ao gigantismo, em acordo com o proposto inicialmente por Foster (6) e por Van Valen (7), nossos resultados, embora se tratem de comparação intraespecífica e não interespecífica, reforçam a conclusão de Itescu et al. (47) de que esse padrão não pode ser generalizado para todos os vertebrados insulares (e. g. 1). Os efeitos de gigantismo/nanismo provavelmente não são dependentes do tamanho dos indivíduos co-específicos ou próximos filogeneticamente do continente (48), e a alteração de tamanho das populações das espécies isoladas em ilhas está associada às características da espécie e da sua relação com o ambiente insular, ou seja, dos efeitos resultantes do processo de

324 seleção natural, como redução de pressão predatória, competição e limitação de recursos
325 (3, 8).

326 Além de diferença total de tamanho, o teste T^2 de Hotelling utilizando os
327 componentes gerados pela PCA revelou que existe diferença alométrica significativa em
328 *S. trapicheiroi*, *B. albomarginata* e *A. marmorata*, porém essa diferença não foi
329 observada no tratamento similar feito com a ANOVA para *T. miliaris*, como já esperado,
330 visto que não apresentou gigantismo nem nanismo em nenhuma das populações
331 insulares. Esse padrão de alométrico pode ser resultado de pressões seletivas
332 diferenciadas nas ilhas em relação às populações do continente, como em *Pseudechis*
333 *porphyriacus* e *Dendrelaphis punctatus*, duas serpentes na Austrália, que tiveram redução
334 cranial e aumento do diâmetro corpo em função da exposição a *Rhinella marina* em um
335 curtíssimo período (menos de 100 anos) (49). No entanto, para verificar quais pressões
336 seriam essas, mais estudos devem ser feitos com o intuito de avaliar e quantificar essas
337 modificações e fazer a comparação com as populações continentais.

338 Dentre as características examinadas possivelmente correlacionadas com nanismo
339 ou gigantismo nas populações insulares, a estimativa de superfície da ilha está
340 correlacionada positivamente com o tamanho de *A. marmorata* e negativamente com o
341 tamanho de *S. trapicheiroi* e *B. albomarginata* (somente *T. miliaris* não apresentou
342 correlação com nenhum dos fatores). O número de espécies de anuros na ilha apresentou
343 correlação negativa com o tamanho dos indivíduos para as populações insulares de *S.*
344 *trapicheiroi* e *B. albomarginata*, a distância da ilha para o continente apresentou
345 correlação positiva com o tamanho de *A. marmorata* e negativa com *B. albomarginata*, o
346 tempo de isolamento apresentou correlação positiva com tamanho em ilhas para *A.*
347 *marmorata* ou negativa em *S. trapicheiroi* e a distância entre ilha e continente apresentou
348 correlação negativa com tamanho em *A. marmorata* e *B. albomarginata* (Tabela 1). Uma

349 menor superfície significa menor disponibilidade potencial de habitat explorável, desde
350 que a área seja um fator limitante para a espécie em evidência, como em *A. marmorata*
351 (37). Essa menor disponibilidade de habitat, como é o caso do ambiente insular em
352 relação ao ambiente continental, pode provocar a seleção de indivíduos menores que
353 necessitem de menos recursos para sua sobrevivência. No caso de *A. marmorata*, a
354 quantidade de serapilheira disponível associada com o tempo em que os indivíduos estão
355 submetidos ao ambiente de seleção e a quantidade de espécies que exploram o mesmo
356 habitat (27) podem ser fatores causais associados a redução de tamanho dos indivíduos
357 nas ilhas de Itacuruçá e da Marambaia e a não alteração na Ilha Grande, visto que nessa
358 última a área potencialmente explorável é suficientemente grande para que os indivíduos
359 não sejam submetidos a um ambiente seletivo em que os menores teriam maior
360 probabilidade de sobrevivência.

361 Em *B. albomarginata* provavelmente a modificação de tamanho esteja
362 relacionada com a superfície da ilha devido à aspectos de sua história natural. Essa
363 espécie possui comportamento agressivo entre machos, com proteção territorial efetuada
364 desde através de canto agressivo até interação em combate (39, 50). Como essa espécie
365 se reproduz em poças de áreas abertas e próximas à bordas florestais (13) a elevação
366 marinha durante o processo de isolamento das ilhas promoveu a migração de espécies
367 sobreviventes de poças submersas pelo mar para poças onde já haviam outros machos, e
368 assim promovendo o encontro entre residentes e invasores, e consequentemente a
369 interação agressiva. Como machos maiores possuem maior probabilidade de vitória em
370 combates físicos (51-53), e como fêmeas, durante o amplexo, carregam os machos nas
371 costas para reprodução, machos maiores selecionariam fêmeas de tamanho compatível, e
372 assim a população insular torna-se predominantemente composta de indivíduos maiores.
373 O menor número de espécies nesse contexto promove menos competição, e assim maior

número de indivíduos dessa espécie por unidade de área, e assim em ilhas com menos espécies o aumento de tamanho dos indivíduos é mais pronunciado. Como o maior tamanho foi observado em ilhas com proximidade média para o continente, a correlação negativa entre tamanho e distância para o continente requer que mais estudos sejam feitos e mais ilhas sejam consideradas, verificando a real influência desse fator na modificação de tamanho dos indivíduos.

Em *S. trapicheiroi* é possível visualizar que o número de espécies, o tamanho da ilha, e o tempo de isolamento estão inversamente correlacionados com o tamanho dos espécimes. Assim como *B. albomarginata*, *S. trapicheiroi* apresenta comportamento territorial agressivo, porém sem registro de combate físico (40), e a Ilha Grande, onde essa espécie apresentou redução de tamanho, é a que apresenta maior número de espécies no mesmo habitat que *S. trapicheiroi* (27). Portanto, a competição por recursos no mesmo ambiente de reprodução, associado com o maior tempo sob essa pressão seletiva pode ser o fator que tenha resultado no tamanho reduzido.

Ainda são necessários mais estudos com o objetivo de avaliar outros possíveis fatores que possam afetar o tamanho desses indivíduos insulares, como abundância (e. g. 17, 18), quantidade de microhabitat disponível por unidade de área, dentre outros, e assim se possa refinar as relações causa-efeito do nanismo/gigantismo de anuros em ilhas. Ainda assim, aqui apresentamos evidências de que os efeitos de nanismo e gigantismo em ilhas, ao menos para anfíbios, seja populacional-específico, e não clado-específico como proposto por Meiri et al. (48) e Itescu et al. (47). Ainda, reforçamos a idéia proposta por Lomolino, Sax (8) de que os efeitos de insularidade observados em tamanho dependem de características ecológicas específicas, como aspectos de história natural (21).

399 Agradecimentos

400 Nós agradecemos a José Pombal Jr e Manoela Woitovicz pelo acesso à coleção
401 de herpetologia do Museu Nacional do Rio de Janeiro; à Karina Marques, Renan Manoel
402 de Oliveira, Gustavo Colaço, Yumi Moliné, Renato Fernandes, Taylan Moretti e João
403 Moretti pelo auxílio em excursões à campo; à Marinha do Brasil pela logística; e à
404 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) pela bolsa de
405 doutorado.

406

407 Referências

408

- 409 1. Lomolino MV. Body size evolution in insular vertebrates: Generality of the island
410 rule. *Journal of Biogeography*. 2005;32:1683-99.
- 411 2. Lomolino MV. Body size of mammals on islands: the island rule reexamined. *The*
412 *American Naturalist*. 1985;125(2):310-6.
- 413 3. Meiri S, Cooper N, Purvis A. The island rule: made to be broken? *Proceedings of*
414 *the Royal Society*. 2008(275):7.
- 415 4. Meiri S, Dayan T, Simberloff D. The generality of the island rule reexamined.
416 *Journal of Biogeography*. 2006(33):6.
- 417 5. Meiri S, Dayan T, Simberloff D. Body Size of Insular Carnivores: Little Support
418 for the Island Rule. *The American Naturalist*. 2004;163(3):10.
- 419 6. Foster JB. Evolution of mammals on Islands. *Nature*. 1964;202(4929):2.
- 420 7. Van Valen L. Pattern and the balance of nature. *Evolutionary Theory*. 1973;1:31-
421 49.

- 422 8. Lomolino MV, Sax DF, Palombo MR, Van Der Geer AA. Of mice and
423 mammoths: evaluations of causal explanations for body size evolution in insular
424 mammals. *Journal of Biogeography*. 2012;39(5):842-54.
- 425 9. Benton MJ, Csiki Z, Grigorescu D, Redelstorff R, Sander PM, Stein K, et al.
426 Dinosaurs and the island rule: The dwarfed dinosaurs from Hăţeg Island.
427 *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 2010;293:438-54.
- 428 10. Mathys BA, Lockwood JL. Rapid evolution of great kiskadees on Bermuda : an
429 assessment of the ability of the island rule to predict the direction of contemporary
430 evolution in exotic vertebrates. 2009:2204-11.
- 431 11. Palmer M. Testing the 'island rule' for a tenebrionid beetle (Coleoptera,
432 Tenebrionidae). *Acta Oecologica*. 2002(23):4.
- 433 12. Frost DR. *Amphibian Species of the World: an Online Reference* New York,
434 USA: American Museum of Natural History; 2016 [6.0:]
- 435 13. Haddad CFB, Prado CPa. Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected
436 Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*. 2005;55:207.
- 437 14. DeGard CJ, Halbrook RS. Using Anurans as Bioindicators of PCB
438 Contaminated Streams. *Journal of Herpetology*. 2006;40(1):4.
- 439 15. Blaustein AR, Johnson PT. The complexity of deformed amphibians. *Frontiers in*
440 *Ecology and the Environment*. 2003;1(2):87-94.
- 441 16. Blaustein AR, Kiesecker JM, Chivers DP, Anthony RG. Ambient UV-B radiation
442 causes deformities in amphibian embryos. *Proceedings of the National Academy of*
443 *Sciences*. 1997;94(25):3.
- 444 17. Mageski M, Ferreira RB, Jesus PR, Costa LC, Roper JJ, Ferreira PD. The island
445 rule in the Brazilian frog *Phyllodytes luteolus* (Anura: Hylidae): incipient gigantism?
446 *Zoologia*. 2015;32(5):4.

- 447 18. Wu Z, Li Y, Murray BR. Insular shifts in body size of rice frogs in the Zhoushan
448 Archipelago, China. *Journal of Animal Ecology*. 2006;75:1071-80.
- 449 19. Montesinos R, Silva HRd, Carvalho ALGd. The 'Island Rule' Acting on Anuran
450 Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. *Biotropica*.
451 2012;44:506-11.
- 452 20. Castellano S, Giacoma C. Morphological Variation of the Green Toad, *Bufo*
453 *viridis*, in Italy: A Test of Causation. *Journal of Herpetology*. 1998;32(4):10.
- 454 21. Palkovacs EP. Explaining adaptive shifts in body size on islands: a life history
455 approach. *Oikos*. 2003;103(1):37-44.
- 456 22. Watson DM. A conceptual framework for studying species composition in
457 fragments, islands and other patchy ecosystems. *Journal of Biogeography*. 2002;29(5-
458 6):823-34.
- 459 23. Bittencourt-Silva GB, Silva HRd. Insular Anurans (Amphibia: Anura) of the coast
460 of Rio de Janeiro, southeast, Brazil. *Check List*. 2013;9:225-34.
- 461 24. Silva HRd, Carvalho ALGd, Bittencourt-Silva GB. Frogs of Marambaia: a
462 naturally isolated Restinga and Atlantic Forest remnant of southeastern Brazil. *Biota*
463 *Neotropica*. 2008;8:0-.
- 464 25. Brasileiro CA, Haddad CF, Sawaya RJ, Martins M. A new and threatened species
465 of *Scinax* (Anura: Hylidae) from Queimada Grande Island, southeastern Brazil. *Zootaxa*.
466 2007;1391(1):47-55.
- 467 26. Brasileiro CA, Oyamaguchi HM, Haddad CF. A new island species of *Scinax*
468 (Anura; Hylidae) from southeastern Brazil. *Journal of Herpetology*. 2007;41(2):271-5.
- 469 27. Bittencourt-Silva GB, Silva HRd. Effects of fragmentation and sea-level changes
470 upon frog communities of land-bridge islands off the southeastern coast of Brazil. *PLoS*
471 *ONE*. 2014;9.

- 472 28. Brasil. Baías da Ilha Grande e Sepetiba <http://www.mar.mil.br/dhn/chm/box->
473 [cartas-nauticas/cartas.html](http://www.mar.mil.br/dhn/chm/box-cartas-nauticas/cartas.html): Marinha do Brasil; 2016 [
- 474 29. Almeida FC, Maroja LS, Moreira MA, Seuánez HN, Cerqueira R. Population
475 structure and genetic variability of mainland and insular populations of the Neotropical
476 water rat, *Nectomys squamipes* (Rodentia, Sigmodontinae). *Genetics and Molecular*
477 *Biology*. 2005;28(4):693-9.
- 478 30. Losos JB, Ricklefs RE. *The theory of island biogeography revisited*: Princeton
479 University Press; 2009.
- 480 31. Suguio K, Martin L, Flexor J. Quaternary sea levels of the Brazilian coast: recent
481 progress. *Episodes*. 1988;11(3):203-8.
- 482 32. Suguio K. *Geologia do Quaternário e mudanças ambientais*. São Paulo: Oficina
483 de Textos; 2010.
- 484 33. Belo WC, Dias G, Dias MS. O fundo marinho da baía da Ilha Grande, RJ: o relevo
485 submarino e a sedimentação no canal central. *Revista Brasileira de Geofísica*.
486 2002;20(1):5-15.
- 487 34. Giaretta AA, Facure KG. Reproductive ecology and behavior of *Thoropa miliaris*
488 (Spix, 1824)(Anura, Leptodactylidae, Telmatobiinae). *Biota Neotropica*. 2004;4:1-10.
- 489 35. Cocroft RB, Heyer WR. Notes of the frog genus *Thoropa* (Amphibia:
490 Leptodactylidae) with a description of a new species (*Thoropa saxatilis*). *Proceedings of*
491 *Biological Society Washington*. 1988;101(1):12.
- 492 36. Almeida ADP, Angulo A. *Adenomera* aff. *marmorata* (NCN) reproduction.
493 *Herpetological Review*. 2002;33:197-8.
- 494 37. Almeida-Gomes M, Van Sluys M, Rocha CFDd. Ecological observations on the
495 leaf-litter frog *Adenomera marmorata* in a Atlantic rainforest area of southeastern Brazil.
496 *Herpetological Journal*. 2007;17:81-5.

- 497 38. Haddad CFB, Toledo LF, Prado CPdA, Loebmann D, Gasparini JLR, Sazima I.
498 Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia. São Paulo: Anolis Books;
499 2013. 544 p.
- 500 39. Giasson LOM, Haddad CFB. Social Interactions in *Hypsiboas albomarginatus*
501 (Anura: Hylidae) and the significance of acoustic and visual signals. Journal of
502 Herpetology. 2006;40:171-80.
- 503 40. Rico M, Rocha CFDD, Borges Jr VNT, Van Sluys M. Breeding ecology of *Scinax*
504 *trapicheiroi* (Anura, Hylidae) at a creek in the Atlantic Rainforest of Ilha Grande,
505 southeastern Brazil. Amphibia-Reptilia. 2004;25:277-86.
- 506 41. Bokermann WCA. Notas sobre as espécies de *Thoropa* Fitzinger (Amphibia,
507 Leptodactylidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências. 1965;37:525-37.
- 508 42. Luna MC, Taboada C, Baêta D, Faivovich J. Structural diversity of nuptial pads
509 in Phyllomedusinae (Amphibia: Anura: Hylidae). Journal of Morphology. 2012(273):12.
- 510 43. Faivovich J, Haddad CF, Garcia PC, Frost DR, Campbell JA, Wheeler WC.
511 Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hyalinae:
512 phylogenetic analysis and taxonomic revision. 2009.
- 513 44. Google. Google Earth. 7.1.7.2606 ed2017.
- 514 45. Yom-Tov Y, Yom-Tov S, Moller H. Competition, coexistence, and adaptation
515 amongst rodent invaders to Pacific and New Zealand islands. Journal of Biogeography.
516 1999;26(5):947-58.
- 517 46. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. In:
518 Computing RfFS, editor. 3.3.0 ed. Vienna, Austria2016.
- 519 47. Itescu Y, Karraker NE, Raia P, Pritchard PC, Meiri S. Is the island rule general?
520 Turtles disagree. Global Ecology and Biogeography. 2014;23(6):689-700.

48. Meiri S, Raia P, Phillimore AB. Slaying dragons: limited evidence for unusual body size evolution on islands. *Journal of Biogeography*. 2011;38(1):89-100.
49. Phillips BL, Shine R. Adapting to an invasive species: Toxic cane toads induce morphological change in Australian snakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;101(49):5.
50. Giasson LOM, Haddad CFB. Mate choice and reproductive biology of *Hypsiboas albomarginatus* (Anura: Hylidae) in the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. *South American Journal of Herpetology*. 2007;2:157-64.
51. Wells KD. The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*. 1977;25:666-93.
52. Wells KD. The ecology and behavior of amphibians: University of Chicago Press; 2010.
53. Crump ML. Aggression in harlequin frogs: male-male competition and a possible conflict of interest between the sexes. *Animal Behaviour*. 1988;36(4):1064-77.

Tabela

Tabela 1. Values resulted from Pearson's product-moment test between snout-vent length measures (SVL) and intrinsic island characteristics for each species. (t: product-moment, p: result of Pearson's product-moment test, n: number of anuran species in islands, *: p value significant).

	Island surface		n		Isolation time		Distance	
	t	p	t	p	t	p	t	p
<i>Thropa miliaris</i>	-0.69	0.49	0.23	0.82	1.03	0.31	1.41	0.16
<i>Adenomera marmorata</i>	2.75	0.007*	1.17	0.25	2.99	0.004*	-2.19	0.03*
<i>Scinax trapicheiroi</i>	-5.87	<0.001*	-5.17	<0.001*	-5.54	<0.001*	1.26	0.21
<i>Boana albomarginata</i>	-7.75	<0.001*	-10.15	<0.001*	1.03	0.31	-5.37	<0.001*

Figuras

Figura 1. Locais de coleta na Costa Verde do Rio de Janeiro.

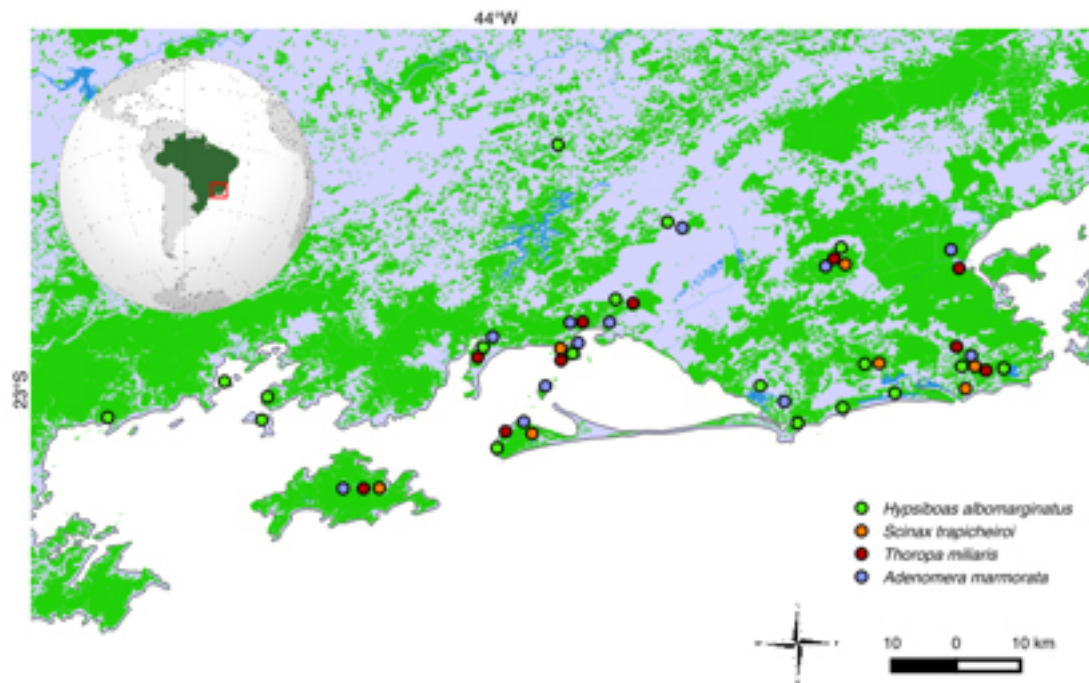


Figura 2. Variações do nível marinho desde 36 mil anos atrás até o presente (incerteza de profundidade= ± 1 m, Desvio padrão médio= ± 280 anos) (de acordo com Brasil (28) e adaptado de Suguio (32))

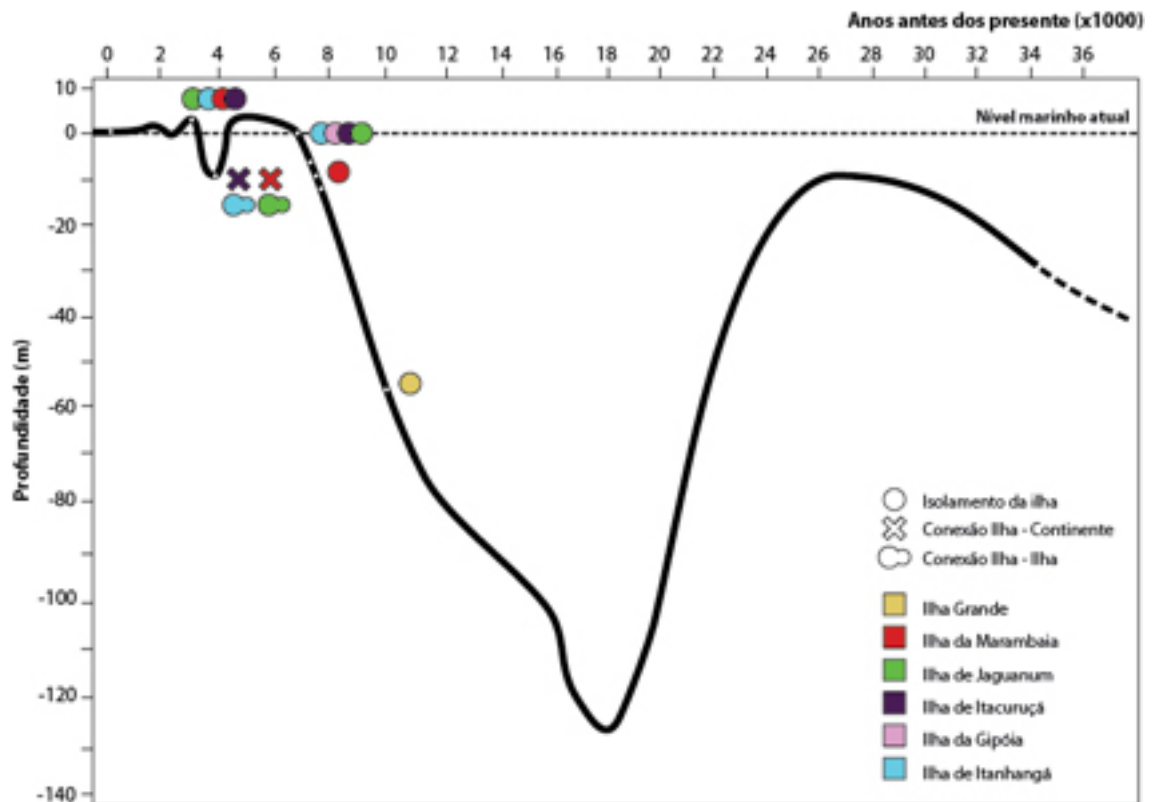
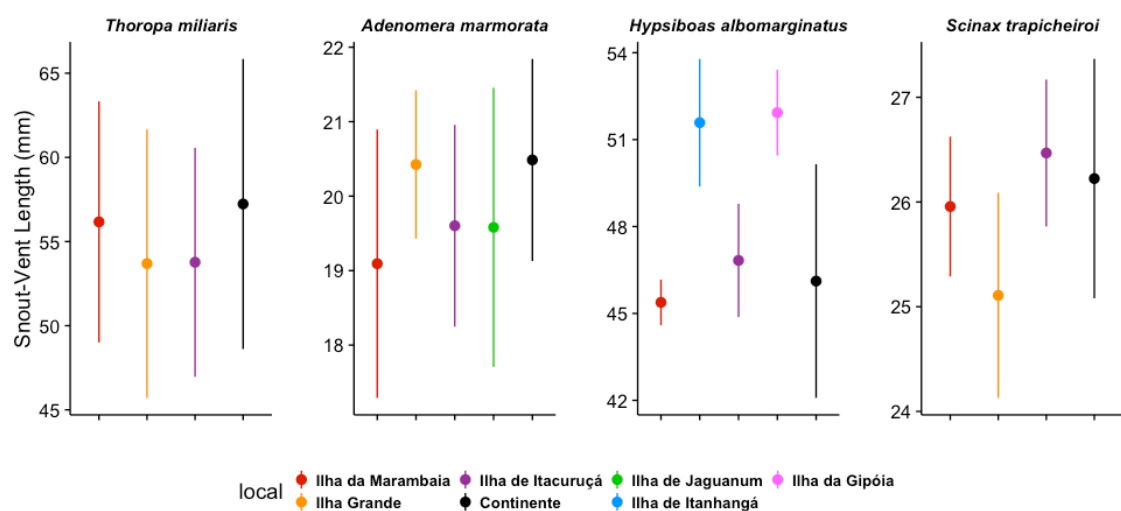
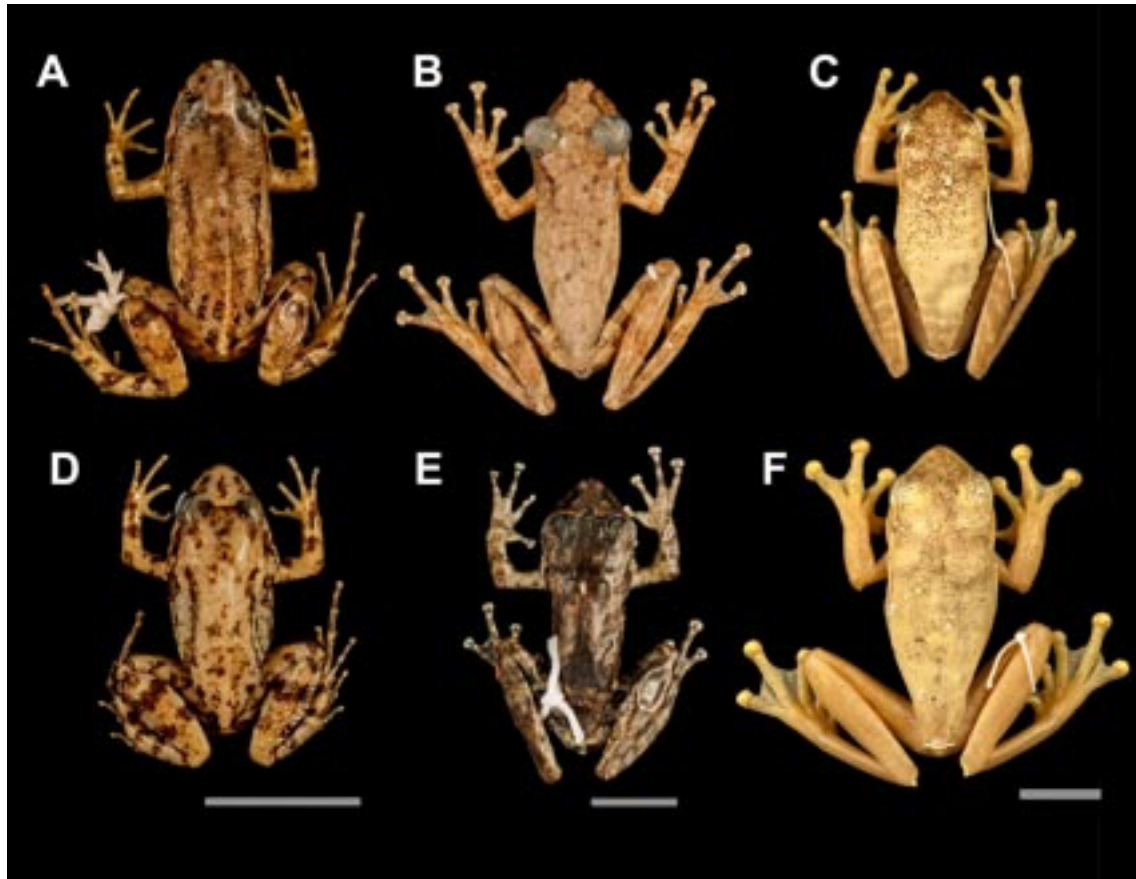


Figura 3. Comprimento rostro-cloacal (SVL) de cada espécie por localidade em que foram coletadas. Cada uma das cores corresponde individualmente a um local, demonstrados o tamanho médio (ponto) e desvio padrão (linhas).



562 Figura 4. Espécies com modificação significativa de tamanho em ilhas: *Adenomera*
563 *marmorata* (A: Continente e D: Ilha da Marambaia), *Scinax trapicheiroi* (B: Continente
564 e E: Ilha Grande) e *Boana albomarginata* (C: Continente e F: Ilha de Itanhangá) (escala:
565 1 cm).

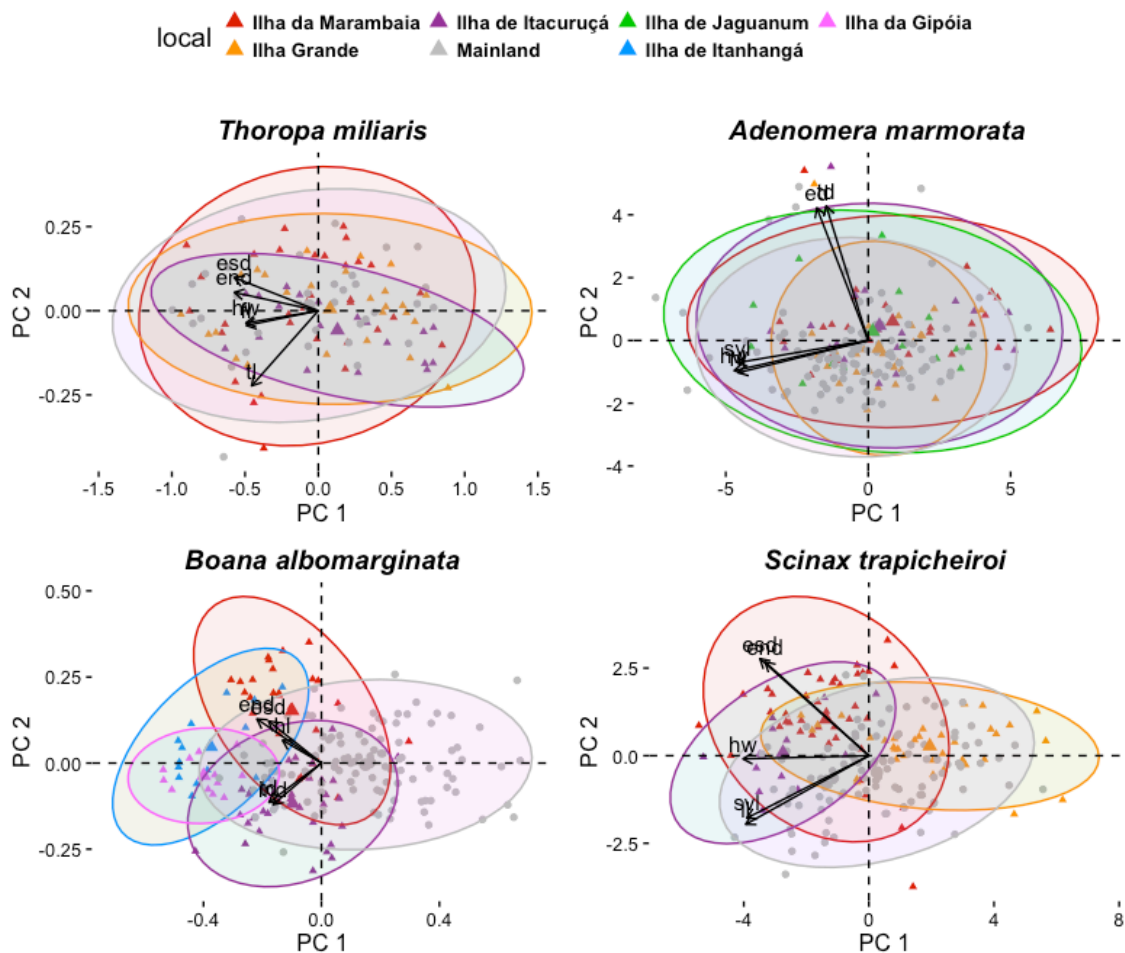


566

567

568 Figure 5. Análise de Componentes Principais (PCA) considerando-se cada ilha e o
569 continente para cada espécie.

570



Material Suplementar

Apêndice I. Loadings dos primeiros cinco componentes Análise de Componentes Principais (PCA) com Proporção de Variância (PoV - %) e Proporção de Variância Acumulada (CpoV - %).

Thoropa miliaris

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
SVL	-0.2718	-0.1204	-0.0549	0.0376	0.1582

HL	-0.2413	0.2761	0.0629	-0.2989	0.7233
HW	-0.2928	-0.0813	-0.0972	0.0506	0.1266
IND	-0.2653	-0.0254	-0.1232	-0.2415	0.1401
IOD	-0.2705	0.0396	-0.2213	0.0734	-0.0619
ESD	-0.3406	0.2199	0.6209	-0.2199	-0.4839
END	-0.3396	0.1215	-0.0356	-0.2887	-0.1781
ED	-0.1844	0.7120	-0.1300	0.6310	-0.0299
TD	-0.2484	0.0260	-0.6720	-0.2785	-0.3552
FTL	-0.2745	-0.1729	0.1113	0.1809	0.0970
TL	-0.2697	-0.4976	-0.0309	0.4217	-0.0577
LL	-0.2803	-0.2063	0.1279	0.1543	0.0588
FL	-0.2913	-0.0978	0.1858	0.0357	0.0564
PoV	79.9225	5.6287	3.2914	3.0059	2.1107
CPoV	79.9225	85.5513	88.8427	91.8486	93.9595

580

Adenomera marmorata

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
SVL	-0.1781	-0.1485	0.0863	-0.2329	0.0451
HL	-0.2738	-0.2796	0.0592	0.0270	-0.1280
HW	-0.2949	-0.3018	0.0700	0.1431	-0.1386
IND	-0.3494	-0.3712	0.1229	0.3807	0.1018
IOD	-0.2912	-0.3131	0.1196	0.0348	-0.3289
ESD	-0.3238	-0.0711	-0.3233	-0.0754	0.5934
END	-0.4172	0.3008	-0.7254	0.1250	-0.1343
ED	-0.3066	0.3382	0.0782	-0.3092	-0.5804

TD	-0.4251	0.5757	0.5521	0.1755	0.3046
FTL	-0.1108	-0.0891	0.1009	-0.2283	0.0631
TL	-0.1204	-0.0928	0.0027	-0.6119	0.1763
LL	-0.0751	-0.0741	0.0174	-0.1273	0.0211
FL	-0.1160	-0.0977	0.0507	-0.4335	0.0920
PoV	39.6216	24.321	8.9126	6.3371	5.1497
CPoV	39.6216	63.9427	72.8552	79.1924	84.3421

581

Boana albomarginata

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
SVL	-0.2619	-0.0742	-0.1273	-0.1392	0.0488
HL	-0.2420	0.2550	-0.2486	-0.1757	-0.6144
HW	-0.2182	-0.0279	-0.1024	-0.1438	0.0522
IND	-0.3010	-0.4643	-0.3747	0.6749	-0.2613
IOD	-0.2525	-0.0391	-0.0365	-0.2320	-0.1226
ESD	-0.3295	0.4700	0.0992	0.1903	0.0989
END	-0.4016	0.4935	0.1747	0.3746	0.2034
ED	-0.2458	0.0473	0.1693	-0.3177	-0.4559
TD	-0.3268	-0.4404	0.7697	0.0211	-0.0545
FTL	-0.2654	-0.1087	-0.1602	-0.1899	0.2460
TL	-0.2364	-0.1430	-0.1885	-0.2555	0.2418
LL	-0.2233	-0.1016	-0.1395	-0.1570	0.2286
FL	-0.2399	-0.0919	-0.1664	-0.1262	0.3177
PoV	53.8251	12.2213	9.6728	7.0597	5.4459
CPoV	53.8251	66.0465	75.7194	82.7799	88.2251

Scinax trapicheiroi

	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5
SVL	-0.0878	-0.0099	-0.0797	-0.0988	-0.2015
HL	-0.2927	-0.1192	-0.2958	-0.0799	0.2293
HW	-0.1227	-0.0115	-0.0790	-0.0882	-0.1548
IND	-0.1393	0.2598	-0.0308	-0.8649	0.3276
IOD	-0.1305	-0.0028	-0.1417	-0.0666	-0.1384
ESD	-0.5412	-0.1584	0.2634	0.0393	0.1887
END	-0.5812	-0.1971	0.4386	0.1020	-0.0462
ED	-0.3229	0.0151	-0.7343	0.2988	0.2552
TD	-0.2179	0.9217	0.1121	0.2451	-0.0787
FTL	-0.0834	-0.0129	-0.1696	-0.1527	-0.4401
TL	-0.0813	-0.0637	-0.0840	-0.1255	-0.4106
LL	-0.1100	-0.0007	-0.1356	-0.1058	-0.3076
FL	-0.2168	0.0104	-0.1053	-0.1098	-0.4364
PoV	40.9463	16.6381	11.7144	9.8124	5.7359
CPoV	40.9463	57.5845	69.2989	79.1113	84.8472